

**PENGARUH PEMBERIAN AIR TAPE KETAN PUTIH TERHADAP JUMLAH
SEL DARAH PUTIH PADA TIKUS *Rattus norvegicus* L BUNTING**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN AIR TAPE KETAN PUTIH TERHADAP JUMLAH SEL DARAH PUTIH PADA TIKUS *Rattus norvegicus* L BUNTING

Oleh:

Firda Ayu Retnoningrum

145070601111037

Telah diuji pada:

Hari: Jum'at

Tanggal: 2 Februari 2018

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes
NIP. 195210271981032001

Pembimbing-I/ Penguji-II

Pembimbing-II/ Penguji-III

dr. Nia Kurnianingsih, M. Biomed
NIK. 2011068404072001

dr. Astri Proborini, SpA, M. Biomed
NIP. 2016078104062001

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Kebidanan

Linda Ratna Wati, SST, M.Kes
198409132014042001

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala kekuatan dan kemudahan yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penyusunan Tugas Akhir yang berjudul “Pengaruh Pemberian Air Tape Ketan Putih Terhadap Jumlah Sel Darah Putih Pada Tikus *Rattus norvegicus* L Bunting”. Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh mitos adanya larangan konsumsi tape selama kehamilan karena dipercaya akan berefek buruk pada kehamilannya. Kandungan alkohol yang terdapat dalam tape mungkin berbahaya bagi ibu hamil dan bayinya, salah satunya yaitu mempengaruhi sistem kekebalan tubuh yang diperantarai oleh sel darah putih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah konsumsi tape ketan putih dapat menurunkan jumlah sel darah putih.

Dengan selesainya tugas akhir ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. Setyawati Soeharto, M. Kes selaku dosen penguji I yang telah bersedia menguji, memberikan masukan, dan koreksi sehingga penulisan tugas akhir ini dapat diselesaikan.
2. dr. Nia Kurnianingsih, M. Biomed selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, masukan, koreksi, semangat dan saran sehingga penulisan tugas akhir ini dapat diselesaikan.
3. dr. Astri Proborini, SpA, M. Biomed selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, masukan, koreksi, semangat dan saran sehingga penulisan tugas akhir ini dapat diselesaikan.

4. Linda Ratna Wati, SST., M. Kes selaku Ketua Program Studi S1 Kebidanan yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di Program Studi S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. Dr. dr Sri Andarini, M. Kes selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. Yang tercinta kedua orang tua, bapak Paijan dan ibu saya Supiyah, yang telah membimbing dan merawat saya selama ini serta tiada hentinya mendo'akan, dan memberikan dukungan dalam bentuk moril maupun materil
7. Adik saya Wulan, Adil, Zaskhiara, dan Zaina kalian alasanku tetap semangat sampai saat ini dan kapanpun.
8. Teman-teman saya Herdian, Sauli, Aisyah, Puput, Ayu yang memberikan semangat serta bantuan dalam proses menyelesaikan Tugas Akhir ini.
9. Teman dari kecil saya Meita R.S, terimakasih sudah mau mendengarkan semua keluh kesah saya dan terimakasih atas dukungan dan semangat yang diberikan sampai saat ini sehingga dapat selesai tugas akhir ini.
10. Semua pihak yang telah membantu saya dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis menerima setiap kritik dan saran yang membangun. Semoga tulisan ini dapat memberi manfaat bagi pembaca serta semua pihak yang membutuhkan.

Malang, Januari 2018

Penulis

ABSTRAK

Retnoningrum, Firda Ayu. 2018. *Pengaruh Pemberian Air Tape Ketan Putih*

*Terhadap Jumlah Sel Darah Putih Pada Tikus *Rattus norvegicus* L*

Bunting. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas

Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Nia Kurnianingsih,

M. Biomed. (2) dr. Astri Proborini, SpA, M. Biomed.

Konsumsi tape ketan putih bagi ibu hamil masih menjadi perdebatan di masyarakat. Tape ketan putih memiliki kandungan alkohol paling tinggi diantara tape jenis lainnya. Alkohol dapat memberikan dampak negatif terhadap sel-sel hematopoietik terutama sel darah putih sebagai sistem pertahanan tubuh. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian air tape ketan putih terhadap jumlah sel darah putih pada tikus *Rattus norvegicus* L bunting. Penelitian ini merupakan eksperimental murni dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Sampel pada penelitian ini sebanyak 20 ekor tikus bunting yang selanjutnya dibagi kedalam 4 kelompok; satu kelompok kontrol (K), dan tiga kelompok perlakuan yang dibagi menjadi 3 kelompok dosis air tape ketan putih (P1=20 mL/KgBB; P2=30 mL/KgBB; P3=40 mL/KgBB). Paparan yang diberikan yaitu air tape ketan putih yang diberikan pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-19 kebuntingan. Selanjutnya, pada hari ke-20 tikus dikorbankan lalu dilakukan pengambilan sampel darah dari jantung untuk dilakukan pengukuran jumlah sel darah putih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel darah putih setelah diberikan paparan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan $p = 0,5$ ($p > 0,0561$) tetapi berdasarkan hasil uji *d-type effect size* pada dosis 40 mL/KgBB menunjukkan pengaruh yang sangat besar dengan $ES=1.4170242$ jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Berdasarkan hasil uji korelasi pearson tidak terdapat hubungan yang signifikan dan berlawanan arah $p = -0,326$ ($p > 0,5$). Pemberian air tape ketan putih dengan kadar alkohol 2,79% cenderung menurunkan jumlah sel darah putih pada tikus bunting meskipun menunjukkan penurunan yang tidak signifikan ($p = 0,561$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kata kunci: hamil, tape ketan putih, jumlah sel darah putih.

ABSTRACT

Retnoningrum, Firda Ayu. 2018. ***Influence Of White Fermented Glutinous Rice***

Water Treatment On White Blood Cells Count In Pregnant Rats

Rattus Norvegicus L. Final Project, S1 Midwifery Program, Medical

Faculty Brawijaya University. Counselor: (1) dr. Nia Kurnianingsih, M.

Biomed. (2) dr. Astri Proborini, SpA, M. Biomed

Consumption of white fermented glutinous rice (WFGR) for pregnant women is still a debate in the community. WFGR has the highest alcohol content among other types of fermented food. Alcohol can have a negative impact on hematopoietic cells especially white blood cells as the body's defense system. Therefore, this study was conducted to determine the effect of WFGR water on the number of white blood cells in *Rattus norvegicus L* pregnant rats. This research is purely experimental with Post Test Only Control Group Design research design. The sample in this study were 20 pregnant rats which were then divided into 4 groups; one control group (K), and three treatment groups divided into 3 doses of WFGR water (P1 = 20 mL / KgBB; P2 = 30 mL / KgBB; P3 = 40 mL / KgBB). Exposure given is WFGR water given on the day-1 until the 19th day of pregnancy. Furthermore, on the 20th day the rats were sacrificed and blood samples taken from the heart were taken to measure the number of white blood cells. The results showed that white blood cell count after exposure did not show significant difference $p = 0,5$ ($p > 0,0561$) but based on result of d-type effect size test at 40 mL/KgBB dose showed very big effect with $ES = 1.4170242$ if compared with the control group. Based on the results of Pearson correlation test there is no significant relationship and opposite direction $p = -0.326$ ($p > 0,5$). The provision of WFGR water with alcohol content of 2.79% tended to decrease the number of white blood cells in pregnant rats although it showed an insignificant decrease ($p = 0,561$) when compared to the control group.

Keywords: pregnancy, white fermented glutinous rice, white blood cell count.

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel.....	x
Daftar Gambar	xi
Daftar Singkatan.....	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tape Ketan	5
2.1.1 Definisi Tape Ketan.....	5
2.1.2 Proses Pembuatan Tape Ketan	5
2.1.3 Perubahan Selama Proses Fermentasi.....	6
2.1.4 Kandungan Nutrisi Dalam Tape Ketan	8
2.2 Fermentasi.....	8
2.2.1 Definisi Fermentasi	8
2.2.2 Peran dan Manfaat Proses Fermentasi.....	9
2.2.3 Proses Fermentasi.....	9

2.2.4 Perubahan Kimia Selama Fermentasi.....	11
2.3 Metabolisme Alkohol.....	12
2.4 Darah.....	13
2.5 Sel Darah Putih.....	14
2.6 Efek Alkohol pada Sel Darah Putih	22
2.7 Sel Darah Putih pada Kehamilan	24
2.8 Sistem Imun pada Kehamilan	24
2.9 Tikus Putih.....	26
2.9.1 Taksonomi Tikus Putih <i>Rattus norvegicus</i>	26
2.9.2 Data Biologis Tikus Putih <i>Rattus norvegicus</i>	27

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep	29
3.2 Hipotesis Penelitian	31

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	32
4.2 Populasi dan Sampel	32
4.3 Variabel Penelitian	33
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	33
4.5 Bahan dan Alat Penelitian.....	34
4.6 Definisi Operasional.....	35
4.7 Prosedur Penelitian.....	36
4.7.1 Adaptasi Hewan Coba	36
4.7.2 Pengawinan Hewan Coba.....	36
4.7.3 Pembagian Kelompok Hewan Coba	37
4.7.4 Pembuatan, Penentuan Dosis, Pengukuran Kadar Alkohol dan Pemberian Air Tape Ketan Putih.....	38
4.7.4.1 Prosedur Pembuatan Tape Ketan Putih	38
4.7.4.2 Prosedur Pengukuran Alkohol Pada Air Tape Ketan Putih	38
4.7.4.3 Penentuan Dosis Air Tape Ketan Putih	38
4.7.4.4 Prosedur Pemberian Air Tape Ketan Putih pada Hewan Coba	39

4.7.4.5 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba	40
4.7.4.6 Prosedur Pembedahan Pengambilan Darah Hewan Coba	40
4.7.4.7 Prosedur Pengukuran Jumlah Sel Darah Putih Induk Tikus	40
9.8 Alur Penelitian.....	42
9.9 Analisa Data	43

BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian dan Analisis Data.....	45
5.2 Analisis <i>d-Type Effect</i>	48

BAB 6. PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pemberian Air Tape Ketan Putih Terhadap Jumlah Sel Darah Putih pada Tikus Bunting.....	50
6.2 Implikasi Dalam Bidang Kebidanan.....	53
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	54

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan.....	55
7.2 Saran.....	55

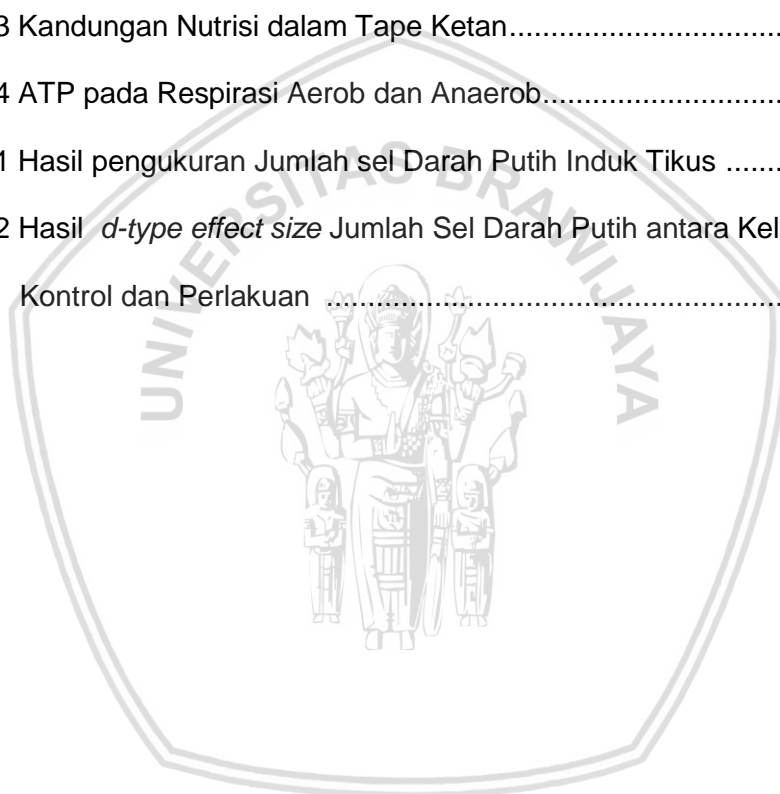
DAFTAR PUSTAKA.....

Lampiran 1. Hasil Jumlah Sel Darah Putih Pada Berbagai Kelompok Perlakuan.....	61
Lampiran 2. Analisis Statistik	61
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian.....	63
Lampiran 4. Pernyataan Keaslian Tulisan.....	67
Lampiran 5. Keterangan Kelaikan Etik Penelitian	68
Lampiran 6. <i>Curriculum Vitae</i>	69
Lampiran 7. Lembar Konsultasi Pembimbing I.....	70
Lampiran 8. Lembar Konsultasi Pembimbing II	7

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Kadar Alkohol pada Tape ketan Putih, Ketan Hitam dan Singkong	6
Tabel 2.2 Perbandingan Penggunaan Beberapa Mikroba dengan Kadar Alkohol yang dihasilkan	7
Tabel 2.3 Kandungan Nutrisi dalam Tape Ketan.....	8
Tabel 2.4 ATP pada Respirasi Aerob dan Anaerob.....	11
Tabel 5.1 Hasil pengukuran Jumlah sel Darah Putih Induk Tikus	46
Tabel 5.2 Hasil <i>d-type effect size</i> Jumlah Sel Darah Putih antara Kelompok Kontrol dan Perlakuan	49

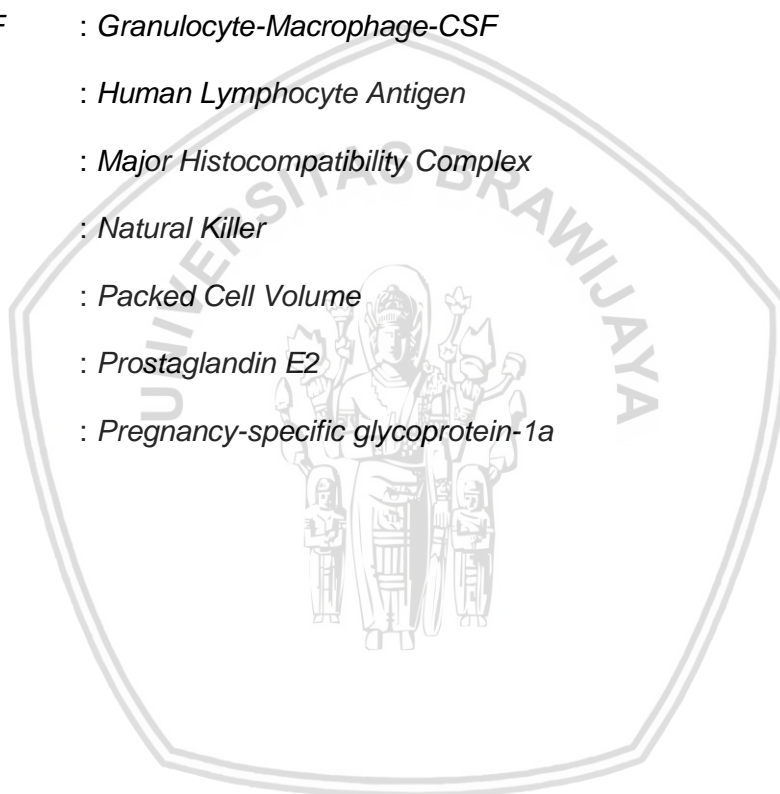


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Skema Fermentasi Alkohol	10
Gambar 2.2 Presentase dan Morfologi Tipe Sel Darah Putih	15
Gambar 2.3 Skema Pembentukan Sel Darah Putih	16
Gambar 2.4 Tikus <i>Rattus norvegicus</i> L	27
Gambar 5.1 Rata-rata Jumlah Sel Darah Putih Induk Tikus Pada Berbagai Kelompok Perlakuan	47
Gambar A. Pengawinan Hewan Coba	64
Gambar B. Penyondean hewan Coba	64
Gambar C. Anestesi Hewan Sebelum Dibedah	65
Gambar D. Pembedaha Hewan Coba	65
Gambar E. Pengambilan Darah dari Jantung	66
Gambar F. Darah Ditampung dalam Tabung EDTA	66
Gambar F. Alat Ukur Jumlah Sel Darah Putih (ABX Micros 60)	67
Gambar H. Air Tape Ketan Putih	67

DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Antigen Presenting Cells</i>
CSF	: <i>Colony Stimulating Factor</i>
G- CSF	: <i>Granulocyte-CSF</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte-Macrophage-CSF</i>
HLA	: <i>Human Lymphocyte Antigen</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
PCV	: <i>Packed Cell Volume</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
PSG1a	: <i>Pregnancy-specific glycoprotein-1a</i>



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kehamilan merupakan suatu proses yang berkesinambungan mulai dari ovulasi, fertilisasi, pembelahan zigot, nidasi (implantasi) pada uterus, pembentukan plasenta, dan tumbuh kembang hasil konsepsi sampai aterm (Manuaba, 2010). Kehamilan yang berjalan dengan baik dan lancar akan melahirkan bayi yang sehat. Untuk mendapatkan bayi yang sehat, ibu hamil harus menjaga kondisi tubuhnya dan pola hidup maupun nutrisi agar kehamilannya berjalan lancar. Faktanya di Indonesia Angka Kematian Ibu (AKI) menurut survei Demografi Kesehatan Indonesia (SDKI) 2012 masih berada pada angka 359 per 100.000 kelahiran hidup dan Angka Kematian Bayi (AKB) mencapai 32 per 1000 kelahiran hidup. Salah satu penyebab langsung kematian ibu di Indonesia adalah infeksi (11%) yang merupakan penyebab kematian ketiga terbanyak setelah perdarahan (28%) dan eklamsi (24%) (Departemen Kesehatan RI, 2010).

Pada hakikatnya, kehamilan merupakan proses alamiah dan bukan proses patologis, tetapi kondisi normal dapat menjadi patologis (Sulistiyawati, 2009). Kehamilan membutuhkan adaptasi fisiologis pada seluruh sistem maternal, termasuk sistem imun (Luppi, 2003). Sistem imun ibu menurun sebagai akibat dari toleransi sistem imun ibu terhadap bayi yang merupakan jaringan semi-alogenik (Sarwono, 2010). Perubahan imun selama kehamilan

menyebabkan keparahan dan kerentanan penyakit infeksi selama kehamilan (Kourtis, 2014).

Salah satu penyebab meningkatnya resiko infeksi adalah konsumsi alkohol. Alkohol mempunyai resiko medis, termasuk mempengaruhi hematologi. Efek merugikan dari alkohol diantaranya pada pembentukan darah atau hematopoiesis, efek tersebut dapat secara langsung maupun tidak langsung. Efek langsung dari konsumsi alkohol adalah efek toksik pada sumsum tulang yang memproduksi prekursor sel darah, sel darah merah (SDM), sel darah putih, dan pletelet, sehingga akan mempengaruhi jumlah sel darah salah satunya sel darah putih. Efek tidak langsung diantaranya defisiensi nutrisi yang mempengaruhi produksi dan fungsi dari sel darah (Richardson, 2003). Sel darah putih atau leukosit adalah bagian dari sistem pertahanan tubuh (Sherwood, 2010). Peningkatan resiko infeksi pada peminum alkohol bertambah besar karena derajat imunitas tubuh menurun yang disebabkan karena alkohol menghambat aktivitas bakterisidal serum. Selain menurunkan imunitas humoral, penggunaan alkohol akan menurunkan imunitas seluler karena terjadi leukopenia dan menghambat kerja makrofag (Joewana, 2004).

Salah satu makanan di Indonesia yang mengandung alkohol adalah tape. Pada beberapa daerah, terdapat mitos yaitu pantangan makan makanan tertentu selama kehamilan misalnya tape, nanas, merica dan cabai karena makanan tersebut dipercaya akan berefek buruk bagi ibu dan bayinya (Sholihah, 2014). Tape merupakan salah satu produk hasil fermentasi, makanan fermentasi tradisional telah menjadi komponen penting dalam makanan dari jutaan orang, khususnya negara berkembang yang industrinya berdasarkan agrikultural (Sanchez, 2008).

Salah satu hasil proses fermentasi ini adalah etanol (etil alkohol) (Sanchez, 2008). Selain itu, penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa kadar alkohol setelah fermentasi pada hari ke-3 pada tape ketan putih mempunyai kadar alkohol paling tinggi (10,58%), dibandingkan dengan tape ketan hitam (9,41%) dan singkong (8,75%) (Yulianti, 2014).

Melihat tingginya kadar alkohol dalam tape ketan putih serta efek alkohol terhadap jumlah sel darah putih, maka perlu dilakukan kajian mengenai pengaruh pemberian tape ketan putih pada tikus betina bunting dengan fokus kajian terhadap sel darah putih sebagai bagian dari sistem imunitas terutama dalam kehamilan. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai “Pengaruh Pemberian Air Tape Ketan Putih Terhadap Jumlah Sel Darah Putih Pada Tikus *Rattus norvegicus* L Bunting”.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pengaruh pemberian air tape ketan putih terhadap jumlah sel darah putih pada tikus *Rattus norvegicus* L bunting?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian air tape ketan putih terhadap jumlah sel darah putih pada tikus *Rattus norvegicus* L bunting.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui hubungan dosis dan respon pada pemberian air tape ketan putih terhadap jumlah sel darah putih pada tikus *Rattus norvegicus* L bunting.

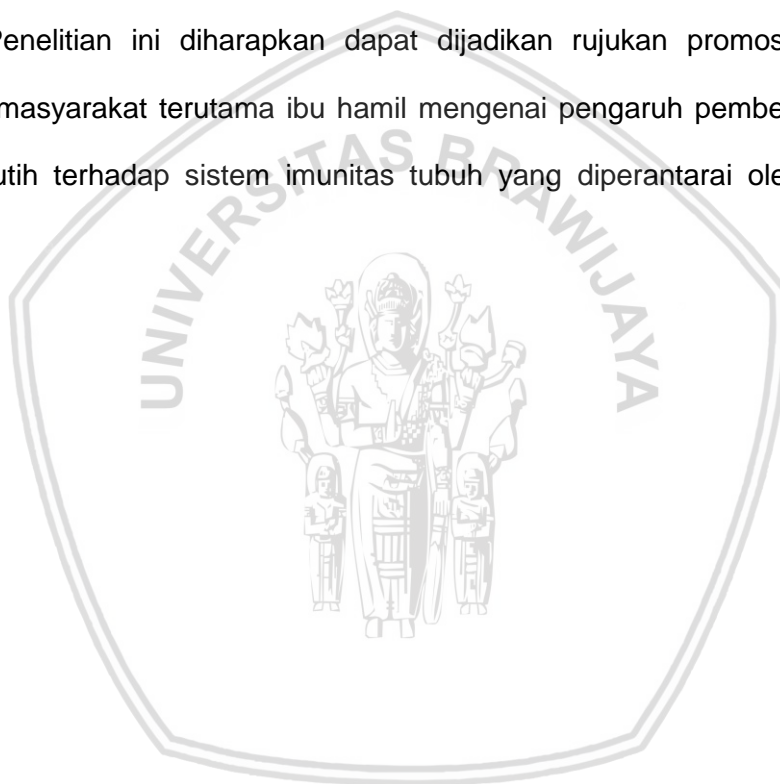
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat akademis

Sebagai rujukan atau dasar ilmiah penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian air tape ketan putih terhadap jumlah sel darah putih pada kehamilan.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan rujukan promosi kesehatan kepada masyarakat terutama ibu hamil mengenai pengaruh pemberian air tape ketan putih terhadap sistem imunitas tubuh yang diperantarai oleh sel darah putih.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tape Ketan

2.1.1 Definisi Tape Ketan

Tape ketan adalah makanan fermentasi tradisional yang diproduksi di Indonesia yang dibuat dari beras ketan yang dikukus (*Oriza sativa var. glutinosa*) dan ditambahkan ragi. Tape ketan dikonsumsi secara langsung tanpa proses lebih lanjut sebagai hidangan pembuka atau pencuci mulut. Tape ketan tidak dikonsumsi setiap hari dan bukan bagian dari makanan sehari-hari. Tape dibuat oleh keluarga untuk acara khusus, seperti festival ramadhan. Namun, saat ini ketan diproduksi oleh industri rumah tangga dan dijual di supermarket. Produknya dikemas dalam toples kaca, enamel atau plastik (Owens, 2015).

2.1.2 Proses Pembuatan Tape Ketan

Proses pembuatan tape ketan yaitu, beras ketan dicuci lalu direndam dalam air selama kurang lebih 1 jam, setelah itu dikukus sampai masak dan lengket, lalu didinginkan pada suhu ruangan. Setelah dingin, ragi ditaburkan diatas beras ketan kira-kira tebalnya 1 cm dan dicampur hingga rata selanjutnya ditempatkan di dalam wadah dan ditutup dengan daun pisang selama 24-72 jam pada suhu ruangan. Beras ketan yang lengket akan menjadi lembut/empuk, berair, manis dan sedikit asam serta siap untuk dikonsumsi. Tape ketan ini dapat dimakan sampai 6 hari atau lebih dari fermentasi (Owens, 2015).

Mikroorganisme penting untuk pembuatan tape ketan yaitu *Amylomyces rouxii* dan ragi yang paling umum ditemukan di dalam tape adalah *Hyphopichia*

burtoni, *Sacharomycopsis fibuligera* dan *Candida beerwijckiae*. Semakin lama fermentasi, akan menghasilkan produk tape yang lebih berair dan kadar alkohol yang tinggi (Owens, 2015). Berikut ini tabel kadar alkohol berdasarkan lama fermentasi:

Tabel 2.1 Kadar Alkohol pada Tape Ketan Putih, Ketan Hitam dan Singkong Berdasarkan Lama Fermentasi.

Jenis Tape	Kadar Alkohol (%) hari ke-				
	2	3	5	6	7
Tape Ketan Putih	7,72	10,58	11,62	12,48	12,08
Tape Ketan Hitam	6,95	9,41	9,41	9,67	10,06
Tape Singkong	7,12	8,75	6,86	5,98	5,90

Sumber: Yulianti, 2014.

2.1.3 Perubahan Selama Proses Fermentasi

Beras ketan putih mengandung lebih dari 80% karbohidrat terutama zat tepung. Jamur menginisiasi fermentasi dengan mengubah zat tepung menjadi glukosa terlebih dahulu oleh aktivitas enzimatis dari jamur diikuti oleh fermentasi glukosa menjadi alkohol. Perubahan utama yang terjadi selama proses fermentasi adalah hidrolisis dari sebagian besar zat tepung diikuti oleh pencairan beras ketan dan produksi gula, etanol dan asam laktat sehingga beras ketan yang lunak berubah menjadi manis dan sedikit asam serta sedikit seperti minuman beralkohol (Owens, 2015).

Pada proses fermentasi menggunakan ragi, ragi menghasilkan enzim yang dapat mengubah gula (glukosa atau sukrosa) menjadi alkohol, karbondioksida dan energi. Jenis ragi tertentu mengeluarkan enzim yang dapat memecah maltosa dan sukrosa menjadi gula sederhana. Ragi dapat berperan dalam industri makanan dan minuman dengan kadar alkohol mencapai 14%.

Ragi juga dapat dijadikan sebagai bahan pengembang pada industri roti karena menghasilkan karbondioksida dan alkohol 3%-5% (Karmana, 2008).

Amylomyces rouxii merupakan jamur utama pada fermentasi tape yang mempunyai aktifitas memecah zat tepung. Pada beras ketan yang hanya difermentasi menggunakan *Amylomyces rouxii*, kandungan zat tepung hanya menurun sedikit selama 12 jam pertama dan kemudian menurun tajam sampai 12% setelah 48 jam. Penurunan kandungan zat tepung ini diikuti oleh pencairan substrat. Ketika beras ketan hanya difermentasi menggunakan *Hyphopichia burtonii* hanya terjadi sedikit pencairan. Selanjutnya ketika beras ketan difermentasi menggunakan kedua jamur tersebut, penurunan kandungan zat tepung sedikit lebih cepat pada 36 jam pertama (mencapai 48%) dibandingkan hanya dengan *Amylomyces rouxii* (Owens, 2015).

Dalam penelitian Cronk *et al.*, 1977 dalam buku *Sweet and Sour Alcoholic Rice/ Cassava Foods and Beverages* menyebutkan bahwa pengaruh berbagai ragi dalam kombinasi dengan *A. rouxii* dalam produksi etanol pada tape ketan pada suhu 30°C ditunjukkan pada tabel berikut:

Tabel 2.2 Perbandingan Penggunaan Beberapa Mikroba Dengan Kadar Alkohol yang Dihasilkan.

Organisme	Etanol (%) pada			
	24 jam	48 jam	96 jam	144 jam
<i>A.rouxii</i>	<0,1	2,3	5,6	5,6
<i>A.rouxii</i> + <i>E. burtonii</i>	<0,1	2,7	6,8	8,0
<i>A.rouxii</i> + <i>E.fibuliger</i>	<0,1	3,7	7,0	7,7
<i>A.rouxii</i> + <i>C.lactosa</i>	<0,1	3,3	7,4	7,3
<i>A.rouxii</i> + <i>C.melinii</i>	<0,1	3,4	7,3	7,5
<i>A.rouxii</i> + <i>C.parapsilosis</i>	<0,1	3,6	7,2	7,6
<i>A.rouxii</i> + <i>H. Anomala</i>	<0,1	2,6	3,2	3,7
<i>A.rouxii</i> + <i>H.malanga</i>	<0,1	2,8	5,6	6,0
<i>A.rouxii</i> + <i>H.subpelliculosa</i>	<0,1	2,6	4,2	4,2

Sumber: Cronk *et al.*, 1997.

2.1.4 Kandungan Nutrisi Dalam Tape Ketan

Nilai gizi pada tape pada dasarnya sama dengan kandungan pada beras ketan putih, dengan perubahan utama yaitu konversi sebagian besar zat tepung menjadi glukosa, alkohol dan asam laktat (Owens, 2015).

Tabel 2.3 Kandungan Nutrisi Dalam Tape Ketan

Kandungan	Komposisi (g/Kg) Dalam Keadaan Basah		
	Tape Ketan Putih	Tape Ketan Hitam	Tape Singkong
Air	105	90	600
Energi (Kkal)	3700	3690	1600
Protein	68	96	13,6
Lemak Total	5,5	34	2,8
Karbohidrat	820	730	380
Serat	28	37,5	18
Total Gula	Tidak terdefinisi	4	17

Sumber: Owens, 2015.

2.2 Fermentasi

2.2.1 Definisi Fermentasi

Fermentasi berasal dari bahasa Latin yaitu *fevere* yang berarti mendidih. Fenomena ini dihubungkan dengan konversi spontan dari substrat menjadi minuman beralkohol dengan katabolisme anaerob dari gula oleh ragi yang menghasilkan gas karbondioksida dan etanol. Dalam arti luas, fermentasi didefinisikan sebagai proses metabolik dimana terjadi perubahan kimia pada substrat organik melewati aktifitas dari enzim oleh mikroorganisme (Sanchez, 2008). Fermentasi adalah proses metabolisme yang menghasilkan energi dari gula dan molekul organik lain serta tidak memerlukan oksigen atau sistem transfer elektron (Abdurrahman, 2008).

Makanan fermentasi tradisional menjadi komponen penting dalam makanan dari jutaan orang, khususnya negara berkembang yang industrinya

berdasarkan agrikultural. Makanan fermentasi termasuk makanan populer dan lezat yang umum dikonsumsi oleh masyarakat menengah ke bawah atau dengan pendapatan rendah dan dihindangkan sebagai sumber kebutuhan nutrisi pada makanan mereka serta sebagai camilan (Sanchez, 2008).

2.2.2 Peran dan Manfaat Proses Fermentasi

Peran proses fermentasi yaitu: 1. Memperkaya diet manusia melalui pengembangan keanekaragaman rasa, aroma, dan tekstur pada makanan. 2. Pengawetan makanan melewati fermentasi asam laktat, alkohol, asam asetat, dan alkali. 3. Memperkaya substrat makanan dengan protein, asam amino esensial, asam lemak, dan vitamin (Sanchez, 2008).

Olahan makanan dengan fermentasi mempunyai beberapa keuntungan tertentu. Proses fermentasi menghasilkan enzim yang diinginkan; menghilangkan rasa, bau, atau enzim yang tidak diinginkan; mengawetkan bahan baku; sintesis konstituen yang diinginkan seperti vitamin, mineral, dan metabolit lainnya; menambah serat, dan merubah warna makanan. Enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme spesifik bertanggung jawab pada konversi bahan baku pada proses fermentasi (Sanchez, 2008).

2.2.3 Proses Fermentasi

Terdapat dua proses fermentasi penting yaitu fermentasi alkohol dan fermentasi asam laktat. Fermentasi alkohol maupun fermentasi asam laktat diawali dengan proses glikolisis. Pada glikolisis diperoleh $2 \text{ NADH} + \text{H}^+ + 2 \text{ ATP} + \text{Asam Piruvat}$. Jika dalam keadaan aerob, hidrogen (H^+) dari NADH akan bereaksi dengan O_2 pada transfer elektron. Jika dalam keadaan anaerob, yang bertindak sebagai akseptor hidrogen permanen adalah asetaldehid atau asam piruvat (Abdurrahman, 2008).



Sebagai hasil dari fermentasi, setiap molekul glukosa akan menghasilkan 2 molekul ATP. Sementara itu, dari respirasi aerobik akan dihasilkan 36 molekul ATP (Karmana, 2008).

Tabel 2.4 ATP Pada Respirasi Aerob dan Anaerob

Fermentasi	Respirasi Seluler
Asam Laktat	Glukosa \rightarrow Asam piruvat \rightarrow Asam laktat + 2 ATP
Alkohol	Glukosa \rightarrow Asam piruvat \rightarrow Karbondioksida+Etanol+ 2 ATP
Respirasi Seluler	Glukosa \rightarrow Asam piruvat \rightarrow Karbondioksida+ Air+ 36 ATP

Sumber: Karmana, 2008.

2.2.4 Perubahan Kimia selama Fermentasi

Selama proses fermentasi terjadi berbagai perubahan kimia/ biokimia. Perubahan ini terutama tergantung pada kualitas bahan, langkah pemrosesan, mikroorganisme yang digunakan, dan jenis produk yang dihasilkan. Berbagai macam bahan dibentuk dari komponen makanan (karbohidrat, protein, dan lemak) selama fermentasi. Bahan ini mempunyai fungsi yang berbeda terhadap rasa dan aroma dari produk fermentasi tergantung pada struktur kimia dan molekul. Bahan yang dihasilkan selama proses fermentasi antara lain asam laktat, asam asetat, asam propionat, diasetil, karbondioksida, etanol, eksopolisakarida, dan lain-lain yang mana mempengaruhi rasa, tekstur dan konsistensi dari produk dan menghambat pembusukan dan mikroorganisme patogenik (Owens, 2015).

2.3 Metabolisme Alkohol

Alkohol diabsorpsi oleh selaput lendir mulut sejak di dalam mulut. Alkohol juga masuk ke dalam tubuh melalui paru-paru walaupun dalam jumlah sedikit karena sifatnya yang mudah menguap. Absorpsi selanjutnya terjadi di saluran cerna, terutama di usus halus. Kecepatan alkohol sampai ke aliran darah bergantung pada beberapa faktor antara lain banyak dan jenis makanan yang ada di dalam lambung, jenis dan kadar alkohol, serta faktor konstitusi peminum. Makanan dalam lambung, terutama makanan campuran akan memperlambat absorpsi. Bila diminum bersama air atau air soda, akan mempercepat absorpsi. Kadar tertinggi alkohol dalam darah dicapai dalam 30-90 menit setelah konsumsi alkohol. Setelah sampai darah, alkohol akan diedarkan ke seluruh tubuh mencapai semua jaringan dan sel. Oleh karena alkohol larut dalam air, jaringan yang mengandung banyak air akan mendapat bagian alkohol yang banyak pula. Perubahan fisiologi peningkatan total air dalam tubuh yang terjadi pada saat hamil dapat meningkatkan volume distribusi etanol (Zelner, 2013). Alkohol dimetabolisasi dalam hepar menjadi karbondioksida, air, dan asetaldehid yang selanjutnya menjadi asetat. Sebanyak 10% alkohol yang dikonsumsi akan diekskresi melalui air seni dan paru-paru tanpa mengalami perubahan, sedangkan selebihnya dioksidasi dan menghasilkan energi dan panas (Joewana, 2004).

Metabolisme alkohol dalam hepar oleh hepatosit melalui tiga jalur metabolisme yang masing-masing terletak pada struktur hepar yang berlainan, yaitu:

- a. Jalur pertama adalah jalur alkohol dehidrogenase (ADH) yang terletak pada sitosol atau bagian cair dari sel. Dalam keadaan normal, ADH

memetabolisme alkohol yang berasal dari fermentasi dalam saluran cerna. ADH memecah alkohol menjadi hidrogen dan asetaldehid yang selanjutnya akan diuraikan menjadi asetat. Asetat akan diuraikan lebih lanjut menjadi H_2O dan CO_2 .

- b. Jalur kedua adalah melalui *microsomal ethanol oxydizing system* (MEOS) yang terletak di retikulum endoplasma. Dengan pertolongan tiga komponen mikrosom yaitu p-450, reduktase, dan lesitin, alkohol akan diurai menjadi asetaldehid.
- c. Jalur ketiga adalah melalui enzim katalase yang terdapat dalam peroksisom (Joewana, 2004).

2.4 Darah

Darah merupakan media transportasi dalam tubuh. Darah beredar dalam sistem pembuluh darah yang tertutup dan menyusun sekitar 6-8% berat badan. Darah tersusun atas dua komponen, yaitu substansi padat volumenya sekitar 45% yang terdiri atas sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), dan sel pembeku (trombosit); dan substansi cair volumenya sekitar 55% disebut plasma darah. Sebagian besar plasma darah (90-92%) tersusun atas air dan di dalamnya terlarut senyawa kimia. Fungsi darah dalam tubuh yaitu:

- a. Alat transpor berbagai jenis bahan kimia, seperti zat makanan yang telah diserap dalam usus ke jaringan-jaringan yang membutuhkannya; zat sampah produk metabolisme dari seluruh jaringan ke alat-alat ekskretori; oksigen dari paru-paru ke jaringan; karbondioksida dari jaringan ke paru-paru; zat pengatur atau hormon dari sumbernya (kelenjar endokrin) ke bagian tubuh tertentu.

- b. Sistem pertahanan tubuh terhadap infeksi kuman, benda asing dan antibodi.
- c. Pengatur, misalnya mengatur stabilitas suhu tubuh yaitu dengan penyebaran panas badan; keseimbangan antara cairan darah dan jaringan; pemeliharaan keseimbangan asam-basa dalam tubuh (Sumardjo, 2009).

2.5 Sel Darah Putih (Leukosit)

Sel darah putih atau leukosit adalah bagian dari sistem pertahanan tubuh. Leukosit dibentuk di sumsum tulang (granulosit, monosit dan sedikit limfosit) dan sebagian di jaringan kelenjar getah bening (limfosit). Leukosit ditransport dalam darah ke bagian tubuh yang membutuhkan atau secara khusus ditransport ke jaringan atau area yang terjadi infeksi dan inflamasi, sehingga dapat dengan cepat mampu bertahan terhadap agen infeksi. Granulosit dan monosit mempunyai kemampuan khusus untuk mencapai dan merusak benda asing (Hall, 2016). Leukosit mampu bergerak bebas secara *amoeboid* serta dapat menembus dinding kapiler pembuluh darah atau disebut *diapedesis* (Sherwood, 2010).

Leukosit tidak mengandung hemoglobin, sehingga tidak berwarna atau putih jika tidak secara khusus diwarnai secara mikroskopis. Leukosit mempunyai struktur, fungsi dan jumlah yang berbeda. Terdapat lima macam leukosit yang berbeda yaitu neutrofil, eosinofil, basofil, monosit dan limfosit yang mempunyai karakteristik struktur dan fungsi yang berbeda-beda. Lima tipe leukosit dibagi menjadi dua kategori berdasarkan ada atau tidaknya inti dan granula pada sitoplasmanya ketika dilihat secara mikroskopis. Neutrofil, eosinofil, dan basofil





Monosit mempunyai masa hidup 10-20 jam dalam darah, sebelum berpindah dari membran kapiler pembuluh darah ke jaringan. Pada saat di jaringan, monosit akan bertambah besar menjadi makrofag yang dapat hidup berbulan-bulan jika tidak mengalami kerusakan karena fungsi fagositnya (Herold, 2014).

Limfosit paling banyak disimpan di jaringan kelenjar getah bening, hanya sedikit yang ditransportasikan di darah. Limfosit masuk ke sistem sirkulasi terus-menerus, sepanjang drainase getah bening dari nodus getah bening ke jaringan limfoid. Setelah beberapa jam, limfosit keluar dari pembuluh darah kembali ke jaringan dengan *diapedesis*. Kemudian akan masuk kembali ke getah bening dan kembali lagi ke darah, dan seterusnya (Hall, 2016). Berikut ini jenis dan fungsi masing-masing leukosit:

a. Neutrofil

Neutrofil adalah jenis sel darah putih yang paling banyak diantara jenis-jenis leukosit. Jumlah neutrofil kira-kira 50-70% dari keseluruhan leukosit. Ada dua jenis neutrofil yaitu neutrofil stab (batang) dan neutrofil polimorfonuklear. Neutrofil batang merupakan bentuk muda dari neutrofil polimorfonuklear. Seriring dengan proses pematangan, bentuk intinya akan bersegmen dan menjadi neutrofil polimorfonuklear (Kiswari, 2014). Perkembangan neutrofil terjadi di sumsum tulang dan produksi neutrofil antara $0,9-1,0 \times 10^9$ sel/Kg/hari (Keohane, 2016).

Neutrofil adalah bagian dari sistem imun *innate* (nonspesifik) yang mempunyai karakteristik merusak organisme asing. Fungsi utama neutrofil adalah sebagai fagosit pada umumnya terhadap bakteri, virus dan merusak mikroorganisme dan material asing. Prosesnya yaitu *seeking* (kemotaksis, motilitas, dan *diapedesis*) dan merusak

(fagositosis dan mencerna). Pada saat terjadi infeksi atau inflamasi, neutrofil memulai proses fagositosis (Keohane, 2016). Neutrofil bersirkulasi di dalam darah kira-kira selama 10 jam dan dapat hidup selama 1-4 hari pada saat berada pada jaringan ekstrasvaskular. Sekali bermigrasi ke jaringan vaskuler, neutrofil tidak dapat kembali lagi ke dalam darah. Populasi neutrofil di sepanjang permukaan endotel pembuluh darah dapat dengan cepat berubah pada saat terjadi stres atau infeksi (Kiswari, 2014).

a. Eosinofil

Eosinofil mengandung granula kasar yang berwarna merah-oranye (eosinofilik) yang tampak pada apusan darah tepi. Intinya bersegmen (pada umumnya dua lobus) (Kiswari, 2014). Jumlah dalam darah tepi adalah sampai $0,4 \times 10^9 / L$ (Keohane, 2016). Waktu yang diperlukan dari pembelahan mitosis mielosit menjadi eosinofil matur di sumsum tulang sekitar 3 ½ hari. Eosinofil mempunyai usia kira-kira 18 jam pada sirkulasi, namun usia hidup eosinofil akan memanjang jika terjadi eosinofilia. Waktu bertahan eosinofil pada jaringan manusia yaitu sekitar 2-5 hari. Jaringan tujuan dari eosinofil adalah di permukaan epitel pernafasan, gastrointestinal, dan saluran kemih (Keohane, 2016).

Fungsi eosinofil yaitu sebagai fagositosis dan menghasilkan antibodi terutama terhadap antigen yang dikeluarkan oleh parasit. Eosinofil melekatkan dirinya ke parasit dengan cara melepaskan molekul spesifik dan zat yang dapat membunuh parasit. Beberapa cara eosinofil membunuh parasit yaitu: 1. Melepaskan enzim hidrolitik dari granula yang akan memodifikasi lisosom; 2. Melepaskan *reactive oxygen* dalam jumlah

banyak yang secara khusus letal terhadap parasit; 3. Melepaskan *major basic protein* (Hall, 2016). Penelitian in vitro menunjukkan bahwa eosinofil mampu merusak jaringan cacing melalui sekresi *major basic protein* (MBP) dan protein kationik serta produksi *reactive oxygen species* (ROS) (Keohane, 2016). Jumlah eosinofil normal adalah 2-4% dan akan meningkat bila terjadi alergi atau infeksi parasit (Kiswari, 2014).

b. Basofil

Basofil mengandung granula kasar berwarna ungu atau biru tua dan seringkali menutupi inti sel. Inti sel basofil bersegmen (Kiswari, 2014). Basofil berasal dari progenitor di sumsum tulang dan berdiferensiasi dibawah pengaruh jumlah sitokin, termasuk IL-3. Kinetik basofil kurang dipahami karena jumlahnya jumlahnya yang sedikit. Waktu hidup basofil adalah 60 jam, lebih lama dibandingkan dengan granulosit yang lain (Keohane, 2016).

Basofil adalah jenis leukosit yang jumlahnya paling sedikit, yaitu kira-kira <2% dari jumlah keseluruhan leukosit. Granula pada basofil mengandung heparin (antikoagulan), histamin, dan substansi anafilaksis. Basofil berperan dalam reaksi hipersensitivitas yang berhubungan dengan imunoglobulin E (Ig E) (Kiswari, 2014). Ketika antigen spesifik untuk antibodi IgE, kemudian antigen akan bereaksi dengan antibodi, perlekatan antigen ke antibodi mengakibatkan basofil ruptur dan melepaskan histamin, bradikinin, serotonin, heparin, dan enzim lisosom. Zat tersebut menyebabkan reaksi lokal pembuluh darah dan jaringan atau manifestasi alergi (Hall, 2016).

c. Limfosit

Limfosit adalah jenis leukosit yang jumlahnya kedua paling banyak setelah neutrofil (20-40% dari total leukosit) (Kiswari, 2014). Limfosit mempunyai dua tipe fungsional yaitu Limfosit B, Limfosit T. Limfosit B memproduksi antibodi yang bersirkulasi dalam darah dan sebagai sistem imunitas humoral yaitu menghasilkan antibodi dan merusak (dengan cara fagositosis) benda asing seperti bakteri yang menginduksi produksi antibodi. Limfosit T tidak memproduksi antibodi, namun secara langsung merusak sel target dengan cara melepaskan bahan kimia yang akan menimbulkan lubang pada sel target. Sel target dari limfosit T yaitu virus dan sel kanker. Limfosit hidup sekitar 100-300 hari. Selama periode ini kebanyakan secara berkelanjutan bersiklus diantara jaringan limfa, kelenjar getah bening, dan darah (Hall, 2016). Jumlah limfosit meningkat bila terjadi infeksi virus (Kiswari, 2014).

Setelah terjadi rangsangan antigen, sel B akan berkembang menjadi sel plasma yang dapat memproduksi antibodi (Kiswari, 2014). Sel T dapat dibagi menjadi CD4 dan CD8. Sel T CD4 meliputi T_H1 , T_H2 , T_H17 , dan T_{reg} . Sel T_H1 memediasi respon imun intraseluler. Sel T_H2 memediasi imun tubuh terhadap parasit ekstraseluler termasuk cacing. Sel T_H17 terlibat dalam respon imun terhadap bakteri ekstraseluler dan jamur. Sel T_{reg} berperan dalam mempertahankan toleransi tubuh dengan meregulasi respon imun. Sel T CD8 mampu membunuh target dengan mensekresi granula yang mengandung *granzyme* dan *perforin* atau dengan mengaktifkan jalur apoptosis di sel target (Keohane, 2016).

d. Monosit

Jumlah monosit kira-kira 3-8% dari total jumlah leukosit. Jumlahnya yaitu sampai $1,3 \times 10^9/L$ (Keohane, 2016). Monosit muncul di sumsum tulang pada saat masih belum matang dan bersirkulasi hanya sekitar satu atau dua hari sebelum ke jaringan tubuh. Setelah itu, monosit matur dan bertambah besar menjadi fagosit yang dinamakan makrofag. Masa hidup makrofag berkisar antara sebulan sampai setahun jika tidak ada aktifitas fagositosis (Hall, 2016). Setelah 8-14 jam berada di dalam darah, monosit menuju ke jaringan menjadi makrofag. Monosit adalah jenis leukosit yang paling besar (diameter 15-20 μm). Inti selnya mempunyai granula kromatin halus yang menekuk berbentuk menyerupai ginjal/biji kacang (Kiswari, 2014).

Monosit mempunyai berbagai fungsi yaitu:

- a. Imun Innate: monosit menstimulasi produksi sitokin inflamasi dan fagositosis (khususnya jamur dan bakteri). Monosit dapat mensintesis *nitric oxide* yang bersifat sitotoksik pada virus, bakteri, jamur, protozoa, cacing dan sel tumor.
- b. Imun Adaptif: monosit dan sel dendrit mendegradasi antigen dan mengenali fragmen antigen pada permukaannya (*antigen-presenting cells*) hal ini akan berpengaruh dan mengaktifasi Limfosit T dan B untuk menginisiasi respon imun adaptif. Sel dendrit adalah *antigen-presenting cells* yang paling efektif dan poten.

Houskeeping function: menghilangkan debris dan sel mati pada tempat infeksi atau jaringan yang rusak, merusak sel darah merah dan mempertahankan simpanan besi untuk eritropoiesis, dan sintesis

bermacam-macam protein, yaitu faktor koagulasi, komplemen, faktor pertumbuhan dan enzim (Keohane, 2016).

2.6 Efek Alkohol pada Sel darah Putih

Alkohol mengganggu produksi dan fungsi sel darah putih yang merupakan bentuk pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme dan benda asing. Alkohol juga mengganggu fungsi monosit dan makrofag yang bertugas menyerang bakteri dan mikroorganisme lain. Pada saat terjadi infeksi, tubuh akan merespon dengan meningkatnya jumlah sel darah putih khususnya neutrofil yang disebut dengan leukositosis, sebaliknya pada konsumsi alkohol sering terjadi penurunan jumlah neutrofil dalam darah (neutropenia). Terjadinya neutropenia berhubungan dengan kurangnya perkembangan di sumsum tulang, atau ketidaktersediaannya prekursor neutrofil. Konsumsi alkohol mengganggu kemampuan neutrofil mencapai tempat infeksi atau inflamasi, alkohol mengurangi produksi leukotrin (hormon yang mengatur kemampuan adhesi neutrofil), selain itu alkohol menghambat kemampuan adhesi monosit (Ballard, 1997).

Alkohol menekan regulasi ekspresi antigen sel induk pada diferensiasi setiap granulosit, penghambatan ini terjadi pada prekursor granulosit dan granulosit matur. Selama infeksi bakteri, sumsum tulang akan mempercepat produksi granulosit untuk mendukung peningkatan mobilisasi fagosit ke sirkulasi. Konsumsi alkohol menghambat pembentukan prekursor granulosit, sehingga granulosit total akan turun (Melvan *et al*, 2012). Alkohol dapat menekan proses mielopoiesis sehingga jumlah prekursor granulosit dan atau monosit dapat menurun sehingga prekursor yang terdiferensiasi akan berkurang (Herold, 2014).

Akحول menginduksi apoptosis sel pluripotensial yang sudah terdiferensiasi (Arzumanyan, 2009). Monosit dan sel dendrit mengkoordinasikan respon imun alami dan imun adaptif dan sangat penting pada aktivasi sel T dalam penerjemah antigen spesifik. Monosit merupakan prekursor sel dendrit (Szabo, 2004). Alkohol mempengaruhi sistem imun dengan mempengaruhi diferensiasi monosit menjadi sel dendrit yang merupakan *Antigen Presenting Cells (APC)* yang paling poten. Penurunan fungsi APC dapat berkontribusi mengurangi respon imun adaptif yang dapat mengakibatkan tubuh rentan terhadap patogen (Mandrekar, 2004).

Kerusakan signifikan pada hematologi yang disebabkan alkohol terjadi karena efek toksik langsung alkohol pada sumsum tulang dan beberapa hubungan yang abnormal pada nutrisi dan sistem pencernaan. Secara medis dapat menyebabkan berbagai kerusakan hematologi termasuk perdarahan dan anemia, penekanan sumsum tulang, lisis sel darah imun dan non imun, disfungsi platelet, perdarahan sistem pencernaan, anemia defisiensi zat besi, defisiensi asam folat, pembesaran limpa, defisiensi faktor koagulasi, neutropenia, trombositopenia, dan kegagalan sumsum tulang. Alkohol menekan secara langsung proses granulopoiesis dengan menghambat *Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF)* (Handin et al., 2003). Alkohol mempengaruhi sumsum tulang secara langsung dan tidak langsung. Efek langsung dari konsumsi alkohol adalah efek toksik pada sumsum tulang yang memproduksi prekursor sel darah, sel darah merah (SDM), sel darah putih, dan pletelet. Efek tidak langsung defisiensi nutrisi yang mempengaruhi produksi dan fungsi dari sel darah putih (Richardson, 2003).

2.7 Sel Darah Putih pada Kehamilan

Peningkatan ringan pada hitung sel darah putih (leukositosis) dapat terlihat selama kehamilan (Norwitz, 2008). Leukositosis selama kehamilan disebabkan oleh stres fisiologis karena kehamilan (Chandra, 2012). Jenis leukosit terbanyak yang jumlahnya berbeda adalah neutrofil. Aktivitas kemotaksis dan fagositosis neutrofil menurun (Jessica, 2007). Bentuk imatur dari mielosit dan metamielosit mungkin ditemukan pada darah tepi wanita hamil yang sehat dan tidak mempunyai kondisi patologis. Hal ini secara sederhana menunjukkan adanya respon sumsum tulang terhadap peningkatan eritropoiesis selama kehamilan (Karalis, 2005). Hitung limfosit menurun selama kehamilan pada trimester 1 dan 2 kemudian meningkat pada trimester 3. Monosit membantu mencegah penolakan fetus infiltrasi ke jaringan desidua dengan cara imunosupresi PGE2 (Kline, 2004). Hitung eosinofil dan basofil tidak berbeda signifikan selama kehamilan (Eldesman, 2001).

2.8 Sistem Imun pada Kehamilan

Setelah konsepsi, terjadi tumbuh kembang hasil konsepsi dalam bentuk zigot kemudian blastokis membentuk villi korialis untuk melakukan implantasi. Interaksi sel tropoblas dengan endometrium bertumbuh kembang menuju proses desidualisasi dengan mengeluarkan prostaglandin, *platelet activating factor*, *plasminogen activating factor*, dengan demikian desidualisasi (peningkatan vaskularisasi, peningkatan pertumbuhan kapiler-kapiler pembuluh darah) endometrium menjadi lengkap setelah proses implantasi blastokis. Untuk infiltrasi ke dalam endometrium, sel trofoblas mengeluarkan *metalloproteinase* yang dapat menghancurkan jaringan endometrium ekstraseluler. Hasil konsepsi akan diterima dan berimplantasi pada endometrium melalui pengendalian *human lymphocyte*

antigen (HLA) yang dikeluarkan oleh sitotrofoblas (Langhans sel) (Manuaba, 2007).

Perubahan respon imun maternal menyebabkan terjadinya toleransi janin. Perubahan respon imun maternal selama kehamilan menyebabkan peningkatan jumlah serangan dan paparan penyakit yang lebih berat dan lama akibat patogen virus (Heffner, 2005). Plasenta tidak mengekspresikan antigen transplantasi *Major Histocompatibility Complex* (MHC) yaitu MHC-2 dan sebagian besar produk-produk MHC-1. MHC adalah protein yang mengontrol sistem imun yang mengenali yang mana antigen diri sendiri dan bukan antigen diri sendiri (Heffner, 2005). Trofoblas menyajikan ekspresi yang minimal dari MHC untuk melindungi fetus dari penolakan respon imun maternal (Sinclair, 2010).

Sistem imun secara potensial menurunkan regulasi respon imun sel T yang akan mengaktifkan komponen sistem imun alami seperti monosit dan neutrofil. Fungsi sel T dan *Natural Killer* (NK) menurun dan sekresi sitokin tipe 1 berkurang yang akan melindungi fetus dari respon imun maternal, sehingga terjadi keseimbangan pertahanan maternal yang intact. Fungsi *Antigen Presenting Cell* (APC) dan kemampuan modulasi imun pada monosit merupakan kunci homeostasis maternal selama kehamilan. Monosit selain sebagai pertahanan tubuh juga dapat mempertahankan toleransi fetal dengan tidak menyajikan sinyal pada sel T, hal ini dapat melalui modifikasi ekspresi antigen (Luppi, 2003).

Sekitar 30% wanita muncul antibodi IgG terhadap HLA fetus bersamaan dengan limfosit T sitotoksik spesifik untuk HLA. Peran antibodi ini tidak terjadi dan tidak menyerang fetus selama kehamilan. Fungsi sel T maternal tidak berespon atau mentoleransi janin (Van Kampen, 2002). Rendahnya kereaktifan

imun maternal terhadap fetus diperkirakan melalui penurunan sel T sitotoksik (CD-8) selama kehamilan (Watanabe, 1997). Supresi aktifitas sel T selama kehamilan akan meningkatkan kerentanan terhadap infeksi virus dan patogen (Luppi, 2003). Hormon estrogen dan progesteron memodulasi kereaktifan sel T (Raghupathy, 2001). Salah satu faktor imunosupresi di dalam serum adalah *pregnancy-specific glycoprotein-1a* (PSG1a) yang disintesis dalam jumlah besar oleh trofoblas plasenta berfungsi penting sebagai modulator sel T dalam sistemik, faktor lain yang berperan dalam imunosupresi adalah prostaglandin E2 (PGE2) sebagai supresor fungsi *antigen presenting cells* dan ekspresi sel T (Motran, 2002).

2.9 Tikus Putih (*Ratus norvegicus* L)

2.9.1 Taksonomi Tikus Putih (*Ratus norvegicus* L)

Berikut dijelaskan mengenai taksonomi tikus putih:

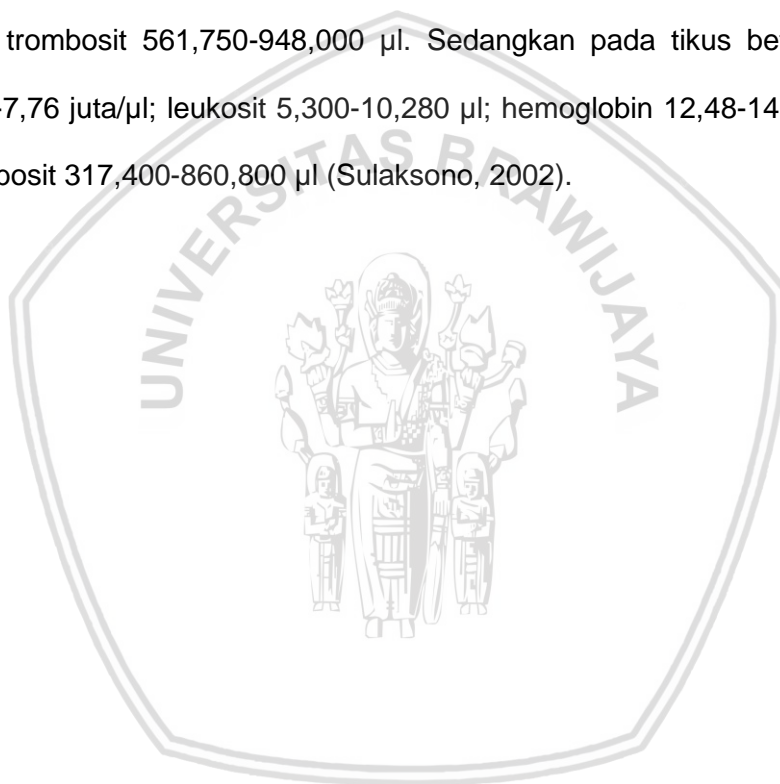
Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> (Krinke, 2000).



pembuktian perkawinan dengan cara mengamati *vaginal plaque* (Wulandari, 2014).

b. Hematologi Tikus

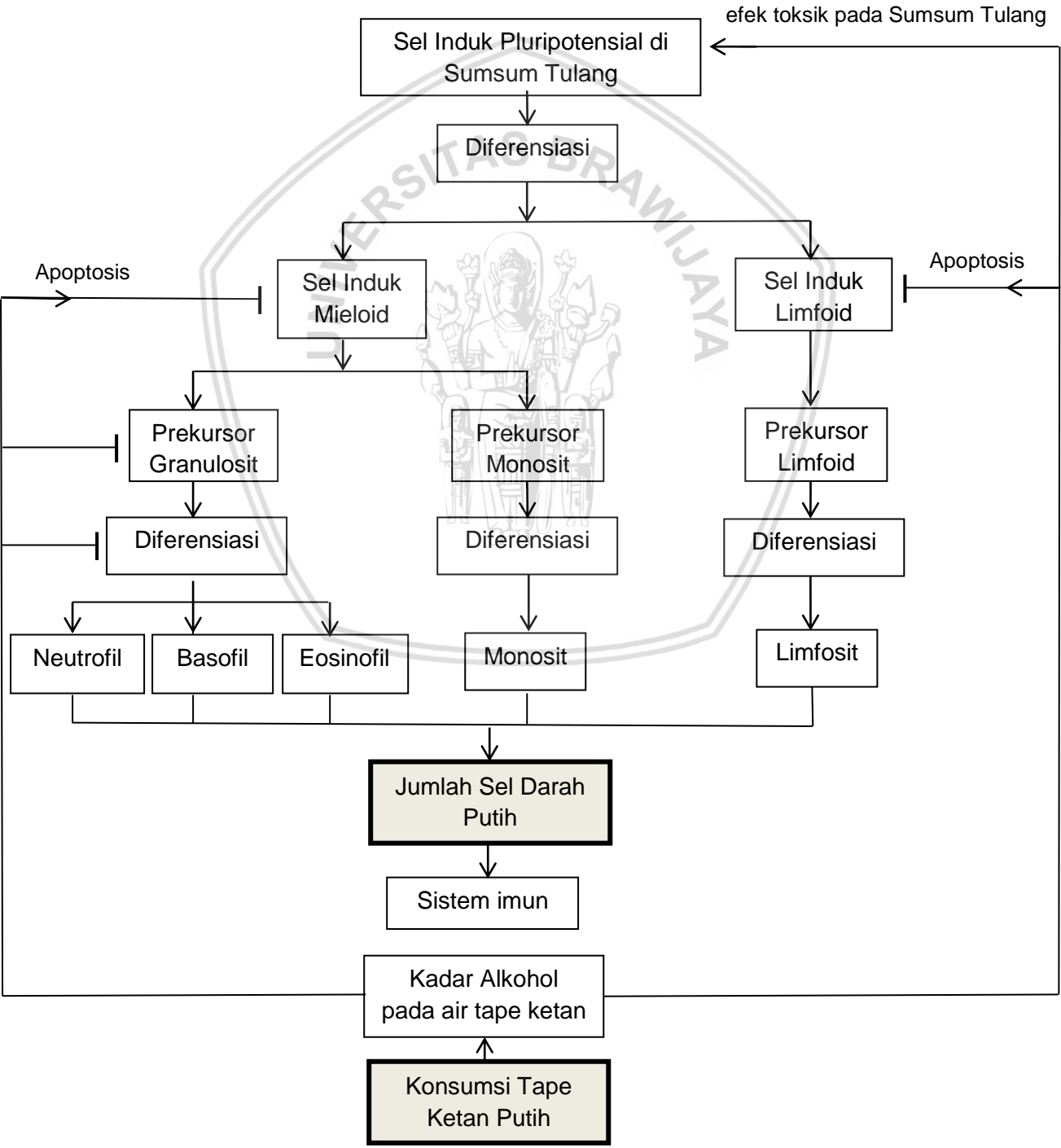
Volume total darah pada tikus adalah 50-70 mL/KgBB atau rata-rata yaitu 64 mL/ KgBB (Krinke, 2000). Nilai hematologi tikus jantan adalah: eritrosit 6,85-8,53 juta/ μ l; leukosit 7,475-11,700 μ l; hemoglobin 12,48-14,63 g/dl; trombosit 561,750-948,000 μ l. Sedangkan pada tikus betina: eritrosit 6,72-7,76 juta/ μ l; leukosit 5,300-10,280 μ l; hemoglobin 12,48-14,58 g/dL dan trombosit 317,400-860,800 μ l (Sulaksono, 2002).



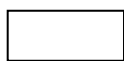
BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



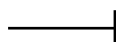
Keterangan:



: tidak diteliti



: diteliti



: menghambat

Keterangan:

Pada konsumsi tape ketan putih, dalam tape ketan putih terdapat kandungan alkohol sebagai hasil dari fermentasi tape ketan putih. Kandungan alkohol pada tape ketan putih berpengaruh pada pembentukan sel darah. Alkohol mempengaruhi pembentukan sel darah dapat melalui efek langsung pada sumsum tulang. Efek langsung dari konsumsi alkohol adalah efek toksik pada sumsum tulang yang berperan memproduksi prekursor sel darah. Selama infeksi bakteri, sumsum tulang akan mempercepat produksi granulosit untuk mendukung peningkatan mobilisasi fagosit ke sirkulasi. Alkohol dapat menghambat pembentukan prekursor granulosit, sehingga granulosit total akan turun. Alkohol menekan regulasi ekspresi antigen sel induk pada diferensiasi setiap granulosit, penghambatan ini terjadi pada prekursor granulosit dan granulosit matur. Alkohol dapat menekan proses mielopoiesis sehingga jumlah prekursor granulosit dan atau monosit dapat menurun sehingga prekursor yang terdiferensiasi akan berkurang juga. Alkohol dapat menginduksi apoptosis sel pluripotensial yang sudah terdiferensiasi. Penghambatan pada setiap proses tersebut pada akhirnya akan mempengaruhi jumlah dan fungsi sel darah putih yang merupakan sistem imunitas tubuh.

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian air tape ketan putih berpengaruh terhadap jumlah sel darah putih pada tikus *Rattus norvegicus* L bunting.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design* yang membandingkan hasil yang didapat sesudah perlakuan (*post test*) dengan kelompok kontrol.

4.2 Populasi dan Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus L* yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya. Pemakaian tikus *Rattus norvegicus L* bunting sebagai hewan coba, dikarenakan tikus jenis ini ukurannya lebih besar, dapat berkembangbiak dengan cepat, mudah dipelihara dalam jumlah banyak (Akbar, 2010).

Sampel penelitian adalah tikus *Rattus norvegicus L* usia 8-16 minggu dengan berat 130-200 gram. Jumlah sampel dapat dihitung dengan rumus $p(n-1) \geq 15$. Dengan n = jumlah sampel dan p = jumlah perlakuan (Solimun, 2001). Berdasarkan rumus tersebut maka diperoleh sampel sebesar:

$$p(n-1) \geq 15$$

$$4n-1 \geq 15+4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Berdasarkan hasil dari rumus diatas, didapatkan jumlah sampel minimal sebanyak 5, jadi digunakan 5 sampel untuk masing-masing kelompok. Jadi keseluruhan jumlah sampel adalah $5 \times 4 = 20$ ekor tikus.

Kriteria inklusi sampel tikus:

- Tikus betina bunting spesies *Rattus norvegicus* L.
- Kondisi sehat yang ditandai dengan pergerakan aktif dan bulu yang tebal berwarna putih.
- Usia 8-16 minggu.
- Berat 130-200 gram.

Kriteria eksklusi sampel tikus:

- Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis air tape ketan putih.
- Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel darah putih.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang selama empat bulan pada bulan September 2017- Desember 2017.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

4.5.1.1 Bahan Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Makanan hewan coba adalah pellet khusus untuk hewan peliharaan yang diberikan sebanyak 40 gram/ekor/hari.
- b. Minuman hewan coba adalah air dari kran secara *ad libitum* (Widartini, 2013).

4.5.1.2 Bahan Perlakuan Hewan Coba

Air tape yang diambil dari tape ketan putih pada fermentasi hari ke-3 karena kebanyakan tape masak pada hari ke-3 dan kemungkinan masyarakat banyak yang mengkonsumsi pada waktu tersebut. Pada penelitian ini, menggunakan air tape ketan dikarenakan untuk memudahkan mekanisme pemberian kepada hewan coba. Air tape ketan putih tersebut diperoleh dari memeras tape secara manual menggunakan tangan.

4.5.2 Alat Penelitian

4.5.2.1 Alat Pemeliharaan Hewan Coba

Kandang tikus berupa bak plastik berukuran panjang 40 cm, lebar 15 cm dan tinggi 10 cm sebanyak 4 buah yang diisi dengan sekam dan ditutup dengan kawat dengan luas 1 cm. Setiap kandang ditempati 6 ekor tikus (Widartini, 2013).

4.5.2.2 Alat Pemberian Makanan dan Minuman Hewan Coba

Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, nampan, tempat minum.

4.5.2.3 Alat Penimbangan Berat Badan Hewan Coba

Timbangan digital.

4.5.2.4 Alat Penentuan Kadar Alkohol Air Tape Ketan Putih

Penentuan kadar alkohol air tape ketan putih menggunakan alat Gas Chromatography Flame Ionization Detector (GC-FID). GC-FID merupakan teknik analisis sangat umum yang digunakan secara luas pada pasar petrokimia, farmasi, dan gas alam. Bagian-bagian GC terdiri dari gas pembawa (*carrier gas*), tempat injeksi sampel (*injector port*), kolom detektor, oven (*temperature controlled*), dan sistem data (Eiceman, 2000). FID biasanya menggunakan api hidrogen/udara yang dilewati sampel untuk mengoksidasi molekul organik dan menghasilkan partikel bermuatan listrik (ion). Ion dikumpulkan dan menghasilkan sinyal listrik yang kemudian diukur.

4.5.2.5 Alat Pemberian Air Tape Ketan Putih pada Hewan Coba

Sonde dan spuit 5 mL.

4.5.2.6 Alat Pembedahan Hewan Coba

Gunting, pinset, jarum pentul, alas kayu, sarung tangan.

4.5.2.7 Alat Pengambilan Sampel Darah Hewan Coba

Spuit 3 mL dan tabung EDTA 3 cc

4.5.2.8 Alat Pengukuran Jumlah Sel Darah Putih

ABX Micros 60 (Hematology Analyzer).

4.6 Definisi Operasional

1. Tape Ketan Putih

Tape ketan putih adalah beras ketan putih yang difermentasikan menggunakan ragi selama 3 hari didapatkan dengan cara memesan kepada penjual tape. Bagian yang digunakan untuk paparan terhadap hewan coba adalah air tape ketan putih yang didapatkan dengan cara memeras tape ketan putih. Air tape ketan putih diberikan dari hari ke-1

sampai hari ke-19 kebuntingan. Dosis P1:20mL/kgBB/hari, P2:30mL/kgBB/hari, P3:40mL/kgBB/hari.

2. Kadar Alkohol

Kadar alkohol adalah kadar alkohol dalam air tape ketan putih pada fermentasi hari ke-3.

3. Tikus Bunting

Tikus bunting adalah tikus betina yang telah dikawinkan dengan tikus jantan dan memperlihatkan tanda-tanda kebuntingan, yaitu terdapat *vaginal plaque* yang merupakan penggumpalan air mani.

4. Jumlah Sel Darah Putih

Jumlah sel darah putih yang diambil dari jantung induk tikus setelah paparan selama hari ke-1 sampai hari ke-19 kebuntingan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (ribu/uL).

4. 7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Adaptasi Hewan Coba

Adaptasi hewan coba dilakukan selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Selama proses adaptasi, semua kelompok tikus diberi pakan pellet serta air diberikan secara *ad libitum*.

4.7.2 Pengawinan Hewan Coba

Proses membuntingkan dilakukan berdasarkan fenomena biologis berupa *Lee Boot effect*, *Pheromone effect*, dan *Whitten effect*. Fenomena biologis ini diterapkan selama masa aklimatisasi. Pertama menerapkan *Lee Boot effect*, yaitu beberapa tikus putih betina berada dalam satu kandang, saat ini tikus putih

dalam fase *un-estrus*. Kedua menerapkan *Pheromone effect*, yaitu memberikan paparan bau-bauan yang berasal dari tikus putih jantan dengan memberikan sekam dari kandang tikus putih jantan ke kandang tikus putih betina. Ketiga terjadi *Whitten effect* yaitu setelah 72 jam pemaparan sekam tikus putih jantan tikus putih betina mengalami birahi atau fase estrus (Sardjono, 2005).

Pengawinan dilakukan saat tikus betina memasuki fase estrus (birahi) yang ditandai dengan penerimaan tikus jantan oleh tikus betina untuk kopulasi yaitu sikap lordosis, telinga bergerak-gerak, dan aktifitas meningkat (Suckow *et al.*, 2006). Fase estrus dapat dirangsang dengan menggunakan rangsangan feromon yang dapat terjadi tanpa adanya hewan jantan. Sinkronisasi siklus estrus dilakukan dengan memaparkan tikus betina pada urin yang berasal dari tikus jantan. Sinkronisasi dilakukan dengan cara menempatkan tikus betina dalam kandang dengan alas sekam yang berasal dari kandang tikus jantan sehingga dapat merangsang sinkronisasi siklus estrus pada tikus betina (Mutianingsih, 2016).

Fase estrus berlangsung 9-15 jam dan biasanya lebih sering terjadi pada malam hari. Kemudian tikus betina dan jantan dicampurkan dengan perbandingan 1:1 dalam satu kandang. Tikus jantan dimasukkan ke dalam kandang tikus betina pada pukul 16.00 WIB dan dipisahkan lagi besok paginya pukul 06.00 WIB. Jika keesokan harinya ditemukan *vaginal plaque*, maka hari tersebut diduga sebagai hari pertama kebuntingan (Turner dan Bagnara dalam Pardede, 2007). Tikus yang telah bunting ditandai dan dimasukkan ke dalam kelompok perlakuan yang sudah ditentukan, sedangkan tikus yang belum bunting dicampur kembali dengan tikus jantan (Arifin dan Samsuria dalam Lovita 2013).

4.7.3 Pembagian Kelompok Hewan Coba

Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara randomisasi yang masing-masing terdiri dari 6 ekor tikus dengan rincian sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol:

Kelompok kontrol: kelompok tikus bunting yang diberikan pakan pellet tanpa diberikan air tape ketan putih.

2. Kelompok perlakuan:

- a. Perlakuan 1 : kelompok tikus bunting yang diberikan pakan pellet dan diberikan air tape ketan putih dengan dosis 20 mL/KgBB/hari.
- b. Perlakuan 2 : kelompok tikus bunting yang diberikan pakan pellet dan diberikan air tape ketan putih dengan dosis 30 mL /KgBB/hari.
- c. Perlakuan 3 : kelompok tikus bunting yang diberikan pakan pellet dan diberikan air tape ketan putih dengan dosis 40 mL /KgBB/hari.

4.7.4 Pembuatan, Pengukuran Kadar Alkohol, Penentuan Dosis, dan Pemberian Air Tape Ketan Putih

4.7.4.1 Prosedur Pembuatan Tape Ketan Putih

Proses pembuatan tape ketan yaitu: beras ketan dicuci lalu direndam dalam air selama kurang lebih 1 jam. Setelah itu dikukus sampai masak dan lengket, lalu didinginkan pada suhu ruangan. Setelah dingin, ragi ditaburkan diatas beras ketan (tebalnya kira-kira 1 cm) dan dicampur hingga rata selanjutnya ditempatkan di dalam wadah dan ditutup dengan daun pisang selama 24-72 jam pada suhu ruangan. Beras ketan yang lengket akan menjadi lembut/empuk, berair dan manis atau asam, dan beraroma alkohol serta siap untuk dikonsumsi (Owens, 2015).

4.7.4.2 Prosedur Pengukuran Kadar Alkohol Pada Air Tape Ketan Putih

Pengukuran kadar alkohol pada air tape ketan putih dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang dengan cara sebanyak 9,50 mL air tape diencerkan dengan akuades sampai 100 mL, ditambahkan 0,50 mL butanol. Selanjutnya larutan ini diinjeksikan sebanyak 1,00 μ L ke dalam alat GC-FID (*Flame Ionization Detector*) (Suaniti, 2015).

4.7.4.3 Penentuan Dosis Air Tape Ketan Putih

Penentuan dosis dilakukan dengan mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan (Oyedeji, 2013) yang berjudul *Effect of Alcohol Consumption on Haematological and Reproductive Parameters in Female Albino Rats*. Penelitian tersebut menggunakan alkohol 20% dengan dosis 10 mL/KgBB pada tikus betina tidak hamil selama 30 hari didapatkan bahwa tidak terjadi penurunan yang signifikan pada *packed cell volume* (PCV), hemoglobin, platelet, dan *total white blood cell* (TWBC) tetapi terjadi penurunan yang signifikan pada sel darah merah (eritrosit) dan limfosit, sedangkan kadar alkohol pada air tape ketan putih adalah 10,58%. Oleh karena itu, pada penelitian ini dosis ditingkatkan menjadi dua kalinya yaitu 20 mL/KgBB untuk (P1), 30 mL/KgBB untuk (P2), dan 40 mL/KgBB untuk (P3).

4.7.4.4 Prosedur Pemberian Air Tape Ketan Putih Pada Hewan Coba

Pemberian air tape ketan putih dimulai hari pertama kebuntingan (hari saat muncul *vaginal plaque*) sampai hari ke-19 kebuntingan. Air tape ketan putih dimasukkan ke dalam spuit 5 mL yang telah dipasang sonde, kemudian sonde dimasukkan peroral hingga mencapai lambung tikus, dengan dosis 20 mL/kgBB/hari untuk (P1), 30 mL/KgBB/hari untuk (P2), dan 40mL/KgBB/hari

untuk (P3). Pemberian air tape ketan putih dilakukan disesuaikan dengan ukuran lambung tikus.

4.7.5 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 7 hari pada temperatur ruangan konstan. Tikus ditempatkan didalam 4 kandang yang terbuat dari box plastik berukuran panjang 40 cm, lebar 15 cm dan tinggi 10 cm, masing-masing kandang terdiri dari 6 ekor tikus. Kandang ditutup kawat dengan luas 1 cm dan diberi alas sekam yang diganti setiap 3 hari sekali. Tikus diberi makanan pellet 1 kali sehari sebanyak 40 gram/ekor/hari pada sore hari pukul 16.00 dan minum secara *ad libitum*.

4.7.6 Prosedur Pembedahan dan Pengambilan Darah Hewan Coba

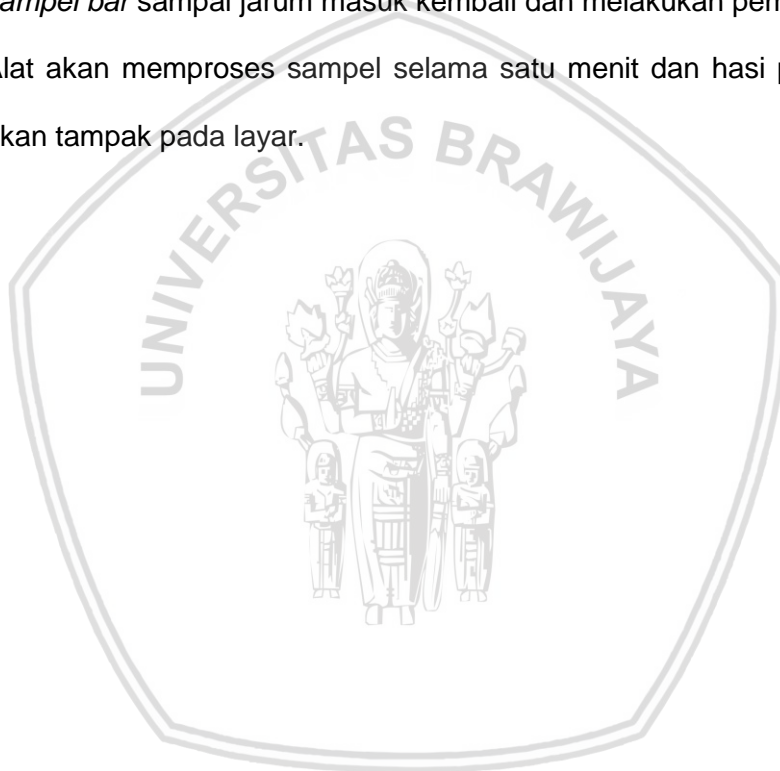
Pembedahan hewan coba dilakukan pada hari ke-20. Hewan coba dibedah/ diterminasi terlebih dahulu sebelum dibedah dengan cara disuntikkan ketamin 0,1-0,2 mL ke paha tikus secara *intramuscular*, kemudian ditunggu sampai tikus lemas tetapi jantung masih berdetak. Setelah itu, dilakukan pembedahan dan darah diambil dari jantung sebanyak 3 cc menggunakan spuit 3 mL lalu ditampung dalam tabung EDTA 3 cc. Darah ini selanjutnya digunakan sebagai sampel untuk penghitungan jumlah sel darah putih. Sedangkan bangkai induk dan bayi tikus yang sudah tidak digunakan dikubur dengan aman (Herawati, 2017).

4.7.7 Prosedur Pengukuran Jumlah Sel Darah Putih Induk Tikus

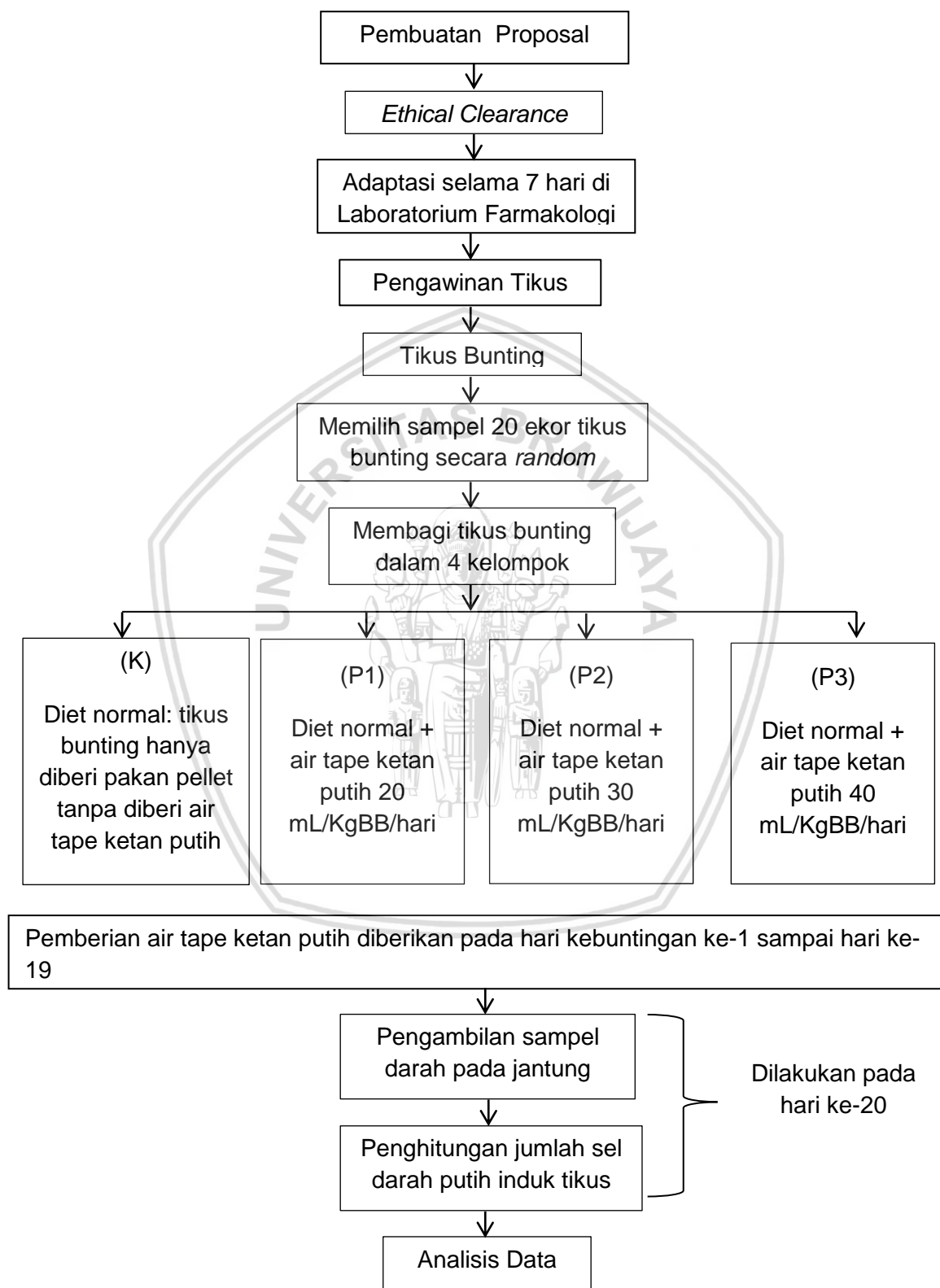
Pengukuran jumlah sel darah putih dilakukan oleh Laboran di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Alat

untuk pemeriksaan jumlah total sel darah putih yaitu ABX Micros 60 (*Hematology Analyzer*) dengan cara:

- a. Menyiapkan bahan pemeriksaan (darah dalam tabung EDTA).
- b. Menekan tombol *ID*, lalu menekan tombol *enter*, menunggu sampai jarum penghisap darah keluar.
- c. Menempelkan alat penghisap sampai dasar tabung kemudian tekan *sampel bar* sampai jarum masuk kembali dan melakukan pemeriksaan.
- d. Alat akan memproses sampel selama satu menit dan hasil pemeriksaan akan tampak pada layar.



4.8 Alur Penelitian



4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara statistik dengan menggunakan program SPSS 12,0 for Windows dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p < 0,05$). Jika p (p values) $> 0,05$ dikatakan tidak signifikan, dan jika p values $< 0,01$ dikatakan sangat signifikan. Langkah-langkah uji data adalah sebagai berikut:

1. Uji normalitas data: bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki sebaran/ distribusi normal atau tidak. Untuk penyajian data yang terdistribusi normal maka digunakan *mean* dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Penyajian data yang tidak terdistribusi normal menggunakan *median* dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Apabila distribusi/sebaran data normal, maka uji hipotesis menggunakan uji parametrik, sedangkan jika sebaran data tidak normal, maka uji hipotesis menggunakan uji non-parametrik. Uji normalitas yang digunakan pada penelitian ini adalah uji Shapiro-Wilk karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50 ($n \leq 50$). Data dikatakan memiliki persebaran normal jika $p > 0,05$.
2. Uji homogenitas varian: jika varian dalam kelompok homogen, maka asumsi untuk menggunakan Anova terpenuhi. Pada penelitian ini menggunakan uji Levene. Data dikatakan memiliki varian yang homogen apabila nilai signifikansinya $p > 0,05$.
3. Uji *one way Anova* (analisis varian satu arah): bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda

signifikan. Perbedaan pada kedua kelompok dianggap signifikan apabila $p < 0,05$.

4. *Post Hoc Test*: bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari uji Anova. *Post Hoc Test* yang digunakan adalah uji Tukey HSD dengan signifikansi 95% ($p < 0,05$).
5. Uji korelasi Pearson: bertujuan untuk mengukur kekuatan hubungan dua variabel atau lebih yang berskala rasio (parametrik). Pada uji korelasi Pearson, bila didapatkan:
 - a. Sig. (p) $> 0,05$: tidak ada korelasi antara dua variabel.
Sig. (p) $< 0,05$: ada korelasi antara dua variabel.
 - b. Kekuatan korelasi $> 0,5$: korelasi yang cukup kuat.
Kekuatan korelasi $< 0,5$: korelasi yang lemah.
 - c. Arah korelasi positif (+): searah. Semakin besar nilai suatu variabel, semakin besar pula nilai variabel lainnya.
Arah korelasi negatif (-): berlawanan arah. Semakin besar nilai suatu variabel, semakin kecil nilai variabel lainnya.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian dan Analisis Data

Penelitian dilakukan selama ± 4 bulan (September 2017-Desember 2017). Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini yaitu 20 ekor tikus bunting yang dibagi menjadi empat kelompok, satu kelompok kontrol (K) yaitu kelompok yang diberikan pakan standar dan tiga kelompok perlakuan yaitu perlakuan 1 (P1) merupakan kelompok yang diberikan pakan standar dan diberikan air tape ketan putih 20 mL/KgBB/hari, perlakuan 2 (P2) merupakan kelompok yang diberikan pakan standar dan diberikan air tape ketan putih 30 mL/KgBB/hari, dan perlakuan 3 (P3) merupakan kelompok yang diberikan pakan standar dan diberikan air tape ketan putih 40 mL/KgBB/hari. Perlakuan yang diberikan berupa pemberian air tape ketan putih pada hari ke-1 sampai hari ke-19 kebuntingan. Kemudian pada hari ke-20, tikus dikorbankan lalu dilakukan pengambilan sampel darah dari jantung, selanjutnya dilakukan pemeriksaan jumlah sel darah putih. Kadar etanol pada tape yang digunakan pada penelitian yaitu sebesar 2,79%.

Berikut ini tabel jumlah sel darah putih induk tikus dari berbagai kelompok perlakuan:

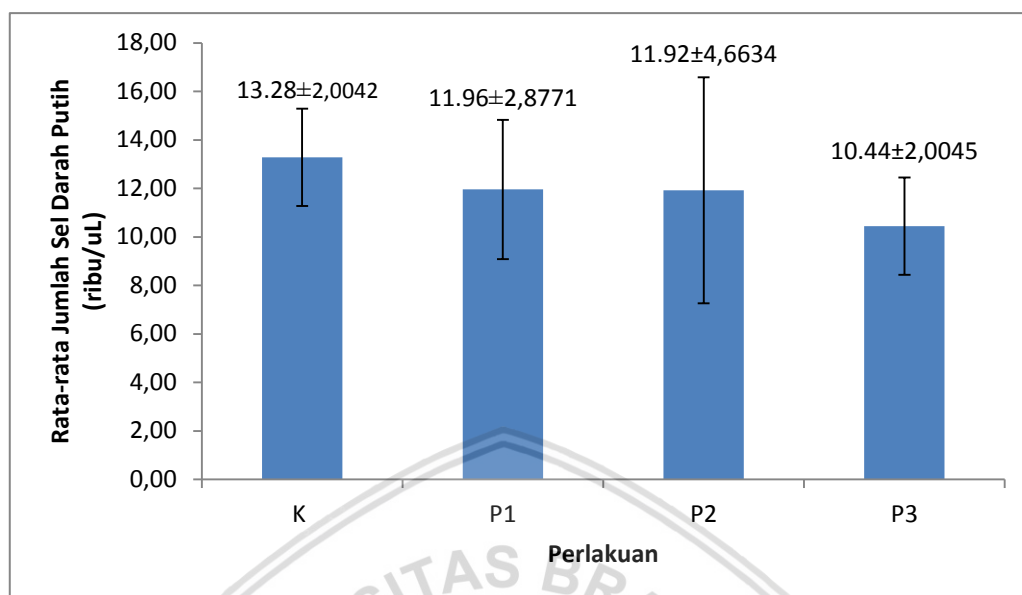
Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Jumlah Sel Darah Putih Induk Tikus (ribu/uL)

Kelompok	Kontrol (K)	P1 (Air tape dosis 20 mL/KgBB)	P2 (Air tape dosis 30 mL/KgBB)	P3 (Air tape dosis 40 mL/KgBB)
No				
Tikus 1	13.1	13.5	7.6	12.1
Tikus 2	13	12.2	14.3	10.6
Tikus 3	12.5	9.1	16.3	10.5
Tikus 4	11.2	15.8	6.2	7.1
Tikus 5	16.6	9.2	15.2	11.9
Rata-rata	13.28	11.96	11.92	10.44
SD	2.0042	2,8711	4,6634	2,0045

Keterangan: Perlakuan diberikan selama 19 hari yaitu dari hari ke-1 sampai hari ke-19 kebuntingan tikus; SD: standar deviasi.

Berdasarkan data pada tabel 5.1 diatas, selanjutnya dilakukan analisis uji normalitas didapatkan nilai $p = 0,729$ ($p > 0,05$) dan uji homogenitas didapatkan nilai $p = 0,828$ ($p > 0,05$) maka dapat disimpulkan bahwa syarat uji ANOVA terpenuhi sehingga bisa dilakukan uji *One way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* diperoleh $p = 0,561$ ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian air tape ketan putih dengan dosis 20 mL/KgBB, 30 mL/KgBB, dan 40 mL/KgBB selama 19 hari tidak memberikan pengaruh yang berbeda secara signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan terhadap penurunan jumlah sel darah putih. Oleh karena tidak ada setidaknya dua kelompok yang berbeda secara signifikan, maka *Uji Tukey HSD* tidak dapat dilakukan.

Berikut ini diagram rata-rata jumlah sel darah putih induk tikus pada berbagai kelompok perlakuan:



Keterangan: K(kontrol); P1(diberi air tape ketan putih 20 mL/KgBB/hari); P2 (diberi air tape ketan putih 30 mL/KgBB/hari); P3 (diberi air tape ketan putih 40 mL/KgBB/hari). Perlakuan dilakukan selama 19 hari yaitu dari hari ke-1 sampai hari ke-19 kebuntingan tikus; Data ditampilkan dalam rata-rata dan standar deviasi (Mean \pm SD).

Gambar 5.1 Rata-rata Jumlah Sel Darah Putih Induk Tikus Pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Dari diagram di atas, dapat dilihat bahwa terdapat kecenderungan penurunan rata-rata jumlah sel darah putih pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol namun tidak terjadi penurunan yang signifikan ($p > 0,561$). Rata-rata penurunan jumlah sel darah putih terendah terdapat pada pemberian air tape ketan putih dengan dosis 40 mL/KgBB/hari.

Berdasarkan uji korelasi didapatkan nilai korelasi (r) yaitu $-0,326$ ($p > 0,05$) maka menunjukkan korelasi yang cukup kuat sedangkan nilai korelasi (r) negatif (-) menunjukkan bahwa apabila dosis air tape ketan putih ditingkatkan maka jumlah sel darah putih akan menurun. Selanjutnya, berdasarkan uji regresi diperoleh nilai *R square* 0,106 sehingga apabila dihitung $R square \times 100 = 10,6\%$ yang artinya pengaruh air tape ketan putih menurunkan jumlah sel darah putih pada tikus bunting yaitu 10,6%.

5.2 Analisis *d-Type Effect Size*

Effect size merupakan ukuran untuk mengetahui besarnya efek suatu variabel terhadap variabel lain, besarnya perbedaan maupun hubungan yang bebas dari pengaruh besarnya sampel (Olejnik, 2003). Variabel yang terkait biasanya berupa variabel bebas (variabel independen) dan variabel terikat (variabel dependen).

Ukuran ini dibutuhkan karena signifikansi statistik tidak memberikan informasi yang cukup berarti terkait besarnya perbedaan atau korelasi. Signifikansi statistik hanya menggambarkan besarnya kemungkinan munculnya statistik dengan nilai tertentu dalam suatu distribusi. Untuk mendapatkan data yang signifikan, nilai *p* yang dimiliki haruslah kecil, hal ini didapat hanya jika mengujinya dalam sampel yang besar (Olejnik, 2000).

Menurut Kain, 2007, *d type effect size* dihitung berdasarkan besarnya perbedaan rata-rata 2 kelompok dibagi standar deviasi kelompok kontrol. *Effect size* mengevaluasi kekuatan dari intervensi dengan lebih baik karena tergantung pada standar deviasi dan bukan pada jumlah sampel.

$$d - type\ effect\ size = \frac{\text{Mean kelompok kontrol} - \text{Mean kelompok perlakuan}}{\text{SD kelompok kontrol}}$$

Hasil penghitungan *d type effect size* diinterpretasikan sebagai berikut

± .20 : *small*

± .50 : *medium*

± .80 : *large*

± 1.3 : *very large*

Untuk melihat besarnya efek pemberian air tape ketan putih terhadap jumlah sel darah putih, dilakukan uji *d-type effect size* dengan kelompok kontrol sebagai pembanding. Berikut ini tabel hasil perhitungan berdasarkan *d-type effect size*:

Tabel 5.2 Hasil *d-type effect size* Jumlah Sel Darah Putih antara Kelompok Kontrol dan Perlakuan.

	Mean	SD	Effect size	Keterangan
K	13.28	2,0042	0	
P1	11,96	2,8711	0.6586169	<i>Medium</i>
P2	11.94	4,6634	0,6685959	<i>Medium</i>
P3	10.44	2,0045	1.4170242	<i>Very Large</i>

Berdasarkan uji *d-type effect size* menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang “Medium” atau sedang pada pemberian air tape ketan putih terhadap jumlah sel darah putih pada kelompok perlakuan P2 dan terdapat pengaruh “Very Large” atau sangat besar pada kelompok perlakuan P3. Dosis *effect size* tertinggi adalah dosis P3 (40 mL/KgBB) (ES = 1.4170242) yang berarti dosis ini memiliki efek yang paling besar dalam mempengaruhi jumlah sel darah putih akibat pemberian air tape ketan putih.

Walaupun menurut uji statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok perlakuan, pada hasil uji *d-type effect size* menginterpretasikan bahwa kelompok perlakuan dengan dosis 40 mL/KgBB memiliki efek yang sangat besar terhadap jumlah sel darah putih (ES = 1.4170242). Nilai positif dalam *effect size* menunjukkan bahwa semakin besar dosis air tape ketan yang diberikan, maka semakin besar pula pengaruhnya dalam menurunkan jumlah sel darah putih.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pemberian Air Tape Ketan Putih terhadap Jumlah Sel Darah Putih pada Tikus Bunting

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada peningkatan dosis air tape ketan putih terdapat kecenderungan menurunkan rata-rata jumlah sel darah putih pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol namun tidak menunjukkan penurunan yang signifikan ($p = 0,561$). Waktu paparan yang terlalu singkat mungkin menjadi penyebab penurunan sel darah putih yang tidak signifikan. Pada penelitian Okoroafor tahun 2013 juga disebutkan bahwa pemberian alkohol secara oral pada tikus putih selama 14 hari juga tidak menunjukkan penurunan jumlah sel darah putih secara signifikan. Selain itu pada penelitian Oyedepi tahun 2013 didapatkan bahwa pemberian alkohol secara oral selama 30 hari pada tikus betina tidak bunting secara tidak signifikan menurunkan *packed cell volume* (PCV), hemoglobin, platelet, dan sel darah putih.

Penurunan jumlah sel darah putih dapat disebabkan karena alkohol dapat menekan proses mielopoiesis sehingga jumlah prekursor granulosit dan atau monosit dapat menurun sehingga prekursor yang terdiferensiasi akan berkurang (Herold, 2014). Berbeda dengan hasil penelitian ini, Melvan *et al*, 2012 menyatakan bahwa pemberian alkohol kadar 20% dengan dosis 5 gr/KgBB secara intraperitoneal dapat menekan regulasi ekspresi antigen sel induk pada diferensiasi setiap granulosit, penghambatan ini terjadi pada prekursor granulosit dan granulosit matur, sehingga granulosit total akan turun. Selama infeksi

bakteri, sumsum tulang akan mempercepat produksi granulosit untuk mendukung peningkatan mobilisasi fagosit ke sirkulasi, tetapi pada pemberian alkohol tersebut terjadi granulositopenia. Namun efek tersebut terjadi pada mencit dengan model septikemia, sedangkan pada penelitian ini menggunakan tikus fisiologis. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa alkohol menekan secara langsung proses granulopoiesis dengan menghambat *Granulocyte Colony Stimulating Factor (G-CSF)* (Handin *et al.*, 2003).

Berdasarkan uraian diatas, dapat dilihat bahwa pemberian alkohol secara injeksi intraperitoneal secara signifikan menurunkan jumlah sel darah putih (granulositopenia) sedangkan pada pemberian alkohol secara oral tidak menunjukkan penurunan yang signifikan terhadap jumlah sel darah putih. Hal ini mungkin disebabkan jika alkohol dikonsumsi secara oral, alkohol akan diabsorpsi oleh selaput lendir mulut sejak di dalam mulut. Alkohol juga masuk ke dalam tubuh melalui paru-paru walaupun dalam jumlah sedikit karena sifatnya yang mudah menguap. Absorpsi selanjutnya terjadi di saluran cerna, terutama di usus halus. Kecepatan alkohol sampai ke aliran darah bergantung pada beberapa faktor antara lain banyak dan jenis makanan yang ada di dalam lambung, jumlah dan kadar alkohol, serta faktor konstitusi peminum, makanan dalam lambung, terutama makanan campuran akan memperlambat absorpsi, tingkat absorpsi paling tinggi pada saat lambung kosong. Alkohol dimetabolisasi dalam hepar menjadi karbondioksida, air, dan asetaldehid yang selanjutnya menjadi asetat. Sebanyak 10% alkohol yang dikonsumsi akan diekskresi melalui air seni dan paru-paru tanpa mengalami perubahan, sedangkan selebihnya dioksidasi dan menghasilkan energi dan panas (Joewana, 2004). Sedangkan jika diberikan secara injeksi intraperitoneal alkohol akan langsung masuk ke pembuluh darah

dan selanjutnya alkohol akan diedarkan ke seluruh tubuh mencapai semua jaringan dan sel (Joewana, 2004).

Pada hasil uji analisis korelasi yaitu pada uji Sig (2-tailed) bahwa tidak terdapat hubungan antara pemberian air tape ketan putih terhadap jumlah sel darah putih dengan nilai sig $p = 0,161$ ($p > 0,05$) dengan Uji Korelasi Pearson didapatkan nilai $r = -0,326$ ($p > 0,5$). Hal ini menunjukkan bahwa hubungan antara pemberian air tape ketan putih terhadap jumlah sel darah putih mempunyai kekuatan korelasi cukup kuat dengan korelasi negatif yang berarti makin tinggi pemberian dosis air tape ketan putih maka jumlah sel darah putih akan semakin menurun.

Berdasarkan analisis *d type effect size* dosis dengan *effect size* tertinggi adalah dosis 40 mL/KgBB/hari ($ES = 1.4170242$). Walaupun menurut uji statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok perlakuan, hasil uji *d type effect size* menginterpretasikan bahwa kelompok perlakuan dengan dosis 40 mL/KgBB memiliki efek yang sangat besar terhadap jumlah sel darah putih pada pemberian air tape ketan putih ($ES \text{ dosis} = 1.4170242$). Nilai positif dalam *effect size* menunjukkan bahwa semakin besar dosis air tape ketan putih yang diberikan, maka semakin besar juga pengaruhnya pada penurunan jumlah sel darah putih.

Kadar alkohol dalam air tape ketan putih yang digunakan pada penelitian ini terlalu sedikit yaitu sebesar 2,79% sehingga kemungkinan hal inilah yang menyebabkan penurunan rata-rata jumlah sel darah putih menjadi tidak bermakna secara statistik. Namun pada penelitian Oyedeji juga menunjukkan bahwa pemberian alkohol dengan kadar 20% pada tikus betina tidak bunting juga

tidak signifikan pada jumlah *packed cell volume* (PCV), kadar hemoglobin, platelet, dan jumlah sel darah putih (Oyededeji, 2013).

6.2 Implikasi terhadap Bidang Kebidanan

Dari uraian sebelumnya, menunjukkan bahwa pemberian air tape ketan putih pada hewan coba tikus bunting didapatkan bahwa semakin tinggi dosis air tape ketan putih yang diberikan maka akan terjadi penurunan yang lebih besar pula terhadap jumlah sel darah putih, maka dari itu bagi ibu hamil hendaknya memperhatikan dosis tape yang dikonsumsi karena akan berpengaruh terhadap jumlah sel darah putih pada ibu hamil. Sel darah putih atau leukosit adalah bagian dari sistem pertahanan tubuh. Kehamilan membutuhkan adaptasi fisiologis pada seluruh sistem maternal, termasuk sistem imun (Luppi, 2003). Sistem imun ibu menurun sebagai akibat dari toleransi sistem imun ibu terhadap bayi yang merupakan jaringan semi-alogenik (Sarwono, 2010). Perubahan imun selama kehamilan menyebabkan keparahan dan kerentanan penyakit infeksi selama kehamilan (Kourtis, 2014). Alkohol mengganggu produksi dan fungsi sel darah putih yang merupakan bentuk pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme dan benda asing. Alkohol juga mengganggu fungsi monosit dan makrofag yang bertugas menyerang bakteri dan mikroorganisme lain (Ballard, 1997).

Alkohol mempengaruhi sumsum tulang secara langsung dan tidak langsung. Efek langsung dari konsumsi alkohol adalah efek toksik pada sumsum tulang yang memproduksi prekursor sel darah, sel darah merah, sel darah putih, dan pletelet. Efek tidak langsung yaitu defisiensi nutrisi yang mempengaruhi produksi dan fungsi dari sel darah putih (Richardson, 2003). Kerusakan pada hematologi yang disebabkan alkohol terjadi karena efek toksik langsung alkohol

pada sumsum tulang dan beberapa hubungan yang abnormal pada nutrisi dan sistem pencernaan. Secara medis dapat menyebabkan berbagai kerusakan hematologi termasuk perdarahan dan anemia, penekanan sumsum tulang, lisis sel darah putih dan sel darah merah, disfungsi platelet, perdarahan sistem pencernaan, anemia defisiensi zat besi, defisiensi asam folat, pembesaran limpa, defisiensi faktor koagulasi, neutropenia, trombositopenia, dan kegagalan sumsum tulang (Handin *et al.*, 2003). Oleh karena itu, bagi ibu hamil diharapkan untuk berhati-hati dan tidak terlalu banyak mengonsumsi tape ketan putih karena berpengaruh terhadap penurunan imun tubuh yang diperantarai oleh sel darah putih.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, antara lain:

- a. Tape ketan putih yang tidak dibuat sendiri oleh peneliti, namun membeli dari penjual tape ketan putih sehingga perbandingan ragi yang digunakan berbeda yang pada akhirnya dapat mempengaruhi besarnya kadar alkohol dalam tape.
- b. Pengukuran kadar alkohol dengan menggunakan air perasan tape mungkin mempengaruhi kadar alkohol.
- c. Dosis yang digunakan dan durasi perlakuan yang terlalu singkat sehingga jumlah sel darah putih tidak berbeda secara signifikan.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

- Pemberian air tape ketan putih dengan kadar alkohol 2,79% cenderung menurunkan jumlah sel darah putih pada tikus bunting meskipun menunjukkan penurunan yang tidak signifikan ($p = 0,561$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- Berdasarkan uji *d-type effect size* ada pengaruh yang sangat besar pada pemberian air tape ketan putih terhadap jumlah sel darah putih pada dosis P3 (40 mL/KgBB) dengan nilai *Effect Size* = 1.4170242 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

7.2 Saran

Dari hasil penelitian, saran yang dapat diberikan yaitu:

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada hewan coba dengan pemberian kadar dan dosis tape ketan putih yang lebih tinggi dibandingkan pada penelitian ini untuk mengetahui kadar dan dosis tape ketan putih yang mampu menurunkan jumlah sel darah putih secara bermakna.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada hewan coba dengan durasi perlakuan yang lebih lama yaitu dilakukan paparan sebelum dan saat tikus bunting.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurahman, D, 2008. *Buku Pelajaran Biologi Kelompok Pertanian dan Kesehatan untuk Kelas X SMK*, Grafindo Media Pratama, Bandung, hal 38-40.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*, Adabia Press, Jakarta, hal. 5.
- Arzumanyan, A.,Helen Ai., Raphael R., and Emanuel R. Effects of Ethanol on Mouse Embryonic Steam Cells. *Alcoholism Clinical and Experimental Research*, 2009, 33 (12): 2172-2179.
- Ballard H.S. The Haematological Complications of Alcoholism, *Alcohol Health and research World*, 1997, Vol 21 No. 1.
- Becker, G.D. 2006. *L' Atlas des Animaux*, Caramel, France. hal 68.
- Chandra, S., Tripathi A. K., Misha, S., Amrazul, M., Vaish, A. K. Physiologica; Changes in Haematological Parameter During Pregnancy, *Indian J Haematl Transfus*, 2012, 28(3):144-146.
- Cronk, T. C., Mattick, L.R., Steinkraus, K.H., Hackler, L.R. Production of Higher Alcohols Indonesian Tape Ketan Fermentation, *Applied and Environmental Microbiology*, 1979, 37(5): 893
- Edlestam G., Lowbeer C., Kral G. New reference values for routine blood samples and human neutrophilic lipocalin during third trimester pregnancy. *Scand J Clin Lab Inv*. 2001;61:583–592. doi: 10.1080/003655101753267937.
- Eiceman, G.A. 2000. *Instrumentation of Gas Chormatography*, John Willey & Sons Ltd, Chichester.
- Hall, J.E. 2016, *Guyton and Hall Texbook of Medical Physiology*, 13th Ed., Elsevier Inc, United States of America, pp:455,456,462,463.
- Handin, R.I., Lux S.E., Stossel T.P. 2003. *Blood Principles and Practice of Hematology* 2nd Ed., Lippincot Williams and Willkins, Philadelphia, p. 1990-1991.
- Heffner, L.J. 2005. *At a Glace Sistem Reproduksi Edisi Kedua*, Erlangga Medical Series, Jakarta, hal. 51.
- Herawati, E. *Pengaruh Pemberian Boraks Terhadap Kejadian Anemia Pada Tikus (Rattus norvegicus) Bunting*, 2017, Skripsi, Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Herold, G. 2014. *Internal Medicine 2nd Edition Vol I*, Gerd Heroid Cologne, Jerman, p 49-50.

- Jessica M., Badger F., Hseih C.C., Troisi R., Lajiou P., Polischman N. Plasma volume expansion in pregnancy: implications for biomarkers in population studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers*. 2007;16:1720.
- Joewana, S. 2004. *Gangguan Mental dan Perilaku Akibat Penggunaan Zat Psikoaktif: Penyalahgunaan NAPZA/ Narkoba Edisi Kedua*, EGC, Jakarta, hal.157,158,159,160,165.
- Jondriatno D. 2012. *Efektivitas Pemberian Ekstrak Etanol Purwoceng (Pimpinella alpina) Pada Hari 1-13 Kebuntingan Terhadap Keberhasilan Implantasi Pada Tikus Putih (Rattus sp.)*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Karalis L., Nadan S., Yemen E.A. Platelet activation in pregnancy induced hypertension. *Thromb Res*. 2005;116(5):377–383.
- Karmana, O., 2008. *Cerdas Belajar Biologi*, Grafindo Media Pratama, Bandung, hal 110-111.
- Keohane, E.M., Smith L.J., Walenga J.M. 2016. *Rodak's Hematology Clinical Principles and Applications 5th Ed.*, Elsevier Inc, Canada, p. 149-159.
- Kiswari, R., 2014. *Hematologi dan Transfusi*, Erlangga Medical Series, Jakarta, hal. 3-5.
- Kliegman., 1996. *Ilmu Kesehatan Anak Nelson Edisi 15*, EGC, Jakarta.
- Kline A.J., Williams G.W, Hernandez-Nino J. Dimer concentration in normal pregnancy: new diagnostic thresholds are needed. *Clin Chem*. 2005;51(5):825–829.
- Kourtis, A.P., Jennifer S.R., Denise J.J. 2014. Pregnancy and Infection. *The New England Journal of Medicine*, p. 221.
- Krinke, G.J. 2000. *The Laboratory Rat*, Academic Press, San Diego, p. 150, 151,152, 486.
- Lovitta, A.N.D. *Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Kadar Hemoglobin Maternal Tikus Rattus norvegicus Bunting Yang Terpapar Asap Rokok Subakut*, 2013, Skripsi, Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Luppi, P., 2003. How Immune Mechanisms are Affected by Pregnancy (Abstract). *Vaccine Journal Vol 21 p.3354*.
- Mandrekar, P., Catalano, D., Dolguniuc, A., Kodys, K. and Szabo, G. Inhibition of Myeloid Dendritic Cell Accessory Cell Function and Induction of T Cell Anergy by Alcohol Correlates with Decreased IL-2 Production, *The Journal of Immunology*, 2004, 173 (5):3398.
- Manuaba I.B.G., 2007. *Pengantar Kuliah Obstetri*, EGC, Jakarta.
- Manuaba, I.G.B. 2007. *Pengantar Kuliah Obstetri*. Jakarta: EGC, hal. 58, 599.

- Manuaba, I.G.B., 2010. *Ilmu Kebidanan, Penyakit Kandungan, dan KB*, EGC, Jakarta.
- Melvan, J.N., Siggin, R.W., Bagby, G.J., Stanford, W.L., Welsh D., Nelson, S., *et al.* Supression of the Stem Sell Antigen-1 Respons an Granulocyte Lineage Expansion by Alcohol during Septicemia, *Crit Care Med*, 2012, 39 (9): 2121-2130.
- Motran C.C., Diaz F.L., Gruppi A., Slavin D., Chatton B., Bocco J.L. Human pregnancy-specific glycoprotein 1a (PSG1a) induces alternative activation in human and mouse monocytes and suppresses the accessory cell-dependent T-cell proliferation. *J Leukocyte Biology*. 2002;72(3):512.
- Mutianingsih, R., Efek Ekstrak Etanol Daun *Moringa oleifera* Varietas NTB Terhadap Kadar MDA, SOD dan Perubahan Histologi *Labyrinth Zone* Plasenta Rattus norvegicus Bunting Yang Diapapar Asap Rokok, 2016, Tesis, Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Norwitz, E.R., and Schorge, J.O. 2007. *At a Glance Obstetri dan ginekologi Edisi Kedua*, Erlangga, Jakarta, hal. 79.
- Okoroafor, C., Ogbo, I., Azi S. The Effect Of Alcohol Intoxication on Haematological Parameters of Adult Albino Wistar Rats, *International Journal of Community Research*, 2013, 2 (3): 46-49: ISSN 2315-6562.
- Olejnik S., Algina J. Generalized Eta and Omega Squared Statistics: Measures Effect Size for Some Common Research Design. *Psychological Methods*, 2003; 8 (4) : 434-447.
- Olejnik S., Algina J. Measure of Effect Size for Comparative Studies: Application, Interpretations, and Limitations, *Contemporary Educational Psychology* , 2000; 25 (3) : 241-286.
- Owens, J.D., 2015. *Fermented Foods and Beverages Series: Indigenous Fermented Food of Southeast Asia London*, CRC Press, London, pp:137, 138,144,150.
- Oyedeji, K.O, A.F. Bolarinwa, A.M Fashina. 2013. Effect of Alcohol Consumption on Haematological and Reproductive Parameters in Female Albino Rats. *Journal of Dental and Medical Sciences; Vol 3 (5) p.76-79.*
- Pardede, R.M., 2007. *Perkembangan dan Pertumbuhan Ambing Tikus Rattus norvegicus Pada usia Kebuntingan 13, 17, dan 21 Hari Akibat Penyuntikan Bst (Bovine Somatotropin)*, Skripsi, Departemen Anatomi, Fisiologi, Dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Raghupathy R. Pregnancy: Success and Failure Within Th1/Th2/Th3 Paradigm. *Sem Immunol* 2001;13:219.
- Richardson, M.S., 2003. *Health Basics*, New Decade, New Jersey, p. 45-46.

- Rosyidah Z. *Pengaruh Pemberian Boraks (Sodium tetraborate decahydrate) Pada Tikus Rattus norvegicus Wistar Bunting Terhadap Berat Plasenta yang Dilahirkan*, 2017, Skripsi, Universitas Brawijaya.
- Sanchez, P.C., 2008. *Philippines Fermented Food: Principles and Technology*, The University of Philippines Press, Philippines, p. 97.
- Sardjono T.W. Effect of *Toxoplasma* infection on pregnancy outcome through interferon-gamma (IFN- γ), the activity of caspase 3 and apoptosis of placental cells. Library, UNAIR. 2005.
- Sherwood, L., 2010. *Human Physiology: From Cells to System*, 7th Ed., Yolanda Cassio, Kanada, p. 400-404.
- Sholihah, L.A. dan Ratu A.D.S. Makanan Tabu pada Ibu Hamil Suku Tengger. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. 2014. Vol 8 No 7 p. 321.
- Sinclair, C., 2010. *Buku Saku Kebidanan*, EGC, Jakarta, hal. 474.
- Solimun, 2001. *Metode Penelitian Kuantitatif*, Alfabeta, Bandung.
- Suaniti, N.M. Kadar Etanol dalam Tape sebagai Hasil Fermentasi Beras Ketan (*Oryza sativa glutinosa*) dengan *Saccaromyces cerevisiae*. Universitas Udayana: *Jurnal Virgin*. 2015. jilid 1 No. 1.
- Suckow, M.A., Weisbroth, S.H., Franklin, C.L. 2016. *The Laboratory Rat*, hal 150.
- Sulaksono, M.E., 2002. *Penentuan Nilai Rujukan Parameter Hewan Percobaan Sebagai Model Penyakit Manusia dan Hewan*. *Jurnal Penelitian*, Litbang Kesehatan, Jakarta.
- Sulistyawati, A., 2009. *Buku Ajar Asuhan Kebidanan Pada Ibu Nifas*, C.V Andi Offset, Yogyakarta, hal 54.
- Sumardjo, D., 2009. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata 1 Fakultas Bioeksakta*, EGC, Jakarta, hal. 18-19.
- Susilowarno, R.G., dkk. 2007. *Biologi untuk SMA/MA Kelas XI*, PT. Grasindo, Jakarta, hal. 113,127.
- Szabo, G., Dona C., Bernadette W., and Pranoti M. Acute Alcohol Consumption Inhibits Accecorey Cells Function of Monocytes and Dendritic Cells. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 2004, 28 (5): 824.
- Van K.C.A., Versteeg-vd M.F., Langerak J., Roelen D.L, Claas F.H. Kinetics of the pregnancy-induction humoral and cellular immune response against the paternal HLA class I antigens of the child. *Human Immunology*. 2002;63(6):452.
- Watanabe M., Iwatani Y., Kaneda T., Changes in T, B, and NK lymphocyte subsets during and after normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol*, 1997, 37 (77.):368.

Widartini, W., 2013. *Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih Rattus norvegicus Tersertifikasi Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium*, Ditlitabmas Ditjen DIKTI Kemendikbud RI, Jakarta.

Yulianti, C.H. Uji Beda Kadar Alkohol Pada Tape Beras, Ketan Hitam dan Singkong. *Jurnal Teknik*, 2014, Vol 6 No 1 p. 533.

Zelner, I., and Koren G. Pharmacokinetics of Ethanol in The Maternal-Fetal Unit, *J Popul The Clin Pharmacol*, 2013, Vol 20(3):259.



Lampiran 1

HASIL JUMLAH SEL DARAH PUTIH INDUK TIKUS PADA BERBAGAI KELOMPOK PERLAKUAN

Kelompok No	Kontrol	P1	P2	P3
1	13.1	13.5	7.6	12.1
2	13	12.2	14.3	10.6
3	12.5	9.1	16.3	10.5
4	11.2	15.8	6.2	7.1
5	16.6	9.2	15.2	11.9
Rata-rata	13.28	11.96	11.92	10.44
SD	2.0042	2,8711	4,6634	2,0045

Lampiran 2

ANALISIS STATISTIK

1. Uji Normalitas Data

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar Leukosit	.100	20	.200*	.969	20	.729

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Leukosit

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
.296	3	16	.828

3. Uji One Way ANOVA

ANOVA

Kadar Leukosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.200	3	6.733	.708	.561
Within Groups	152.100	16	9.506		
Total	172.300	19			

4. Uji Korelasi Pearson

Correlations

		Dosis	Kadar Leukosit
Dosis	Pearson Correlation	1	-.326
	Sig. (2-tailed)	.	.161
	N	20	20
Kadar Leukosit	Pearson Correlation	-.326	1
	Sig. (2-tailed)	.161	.
	N	20	20

5. Regresi Linear

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.326 ^a	.106	.057	2.9249

a. Predictors: (Constant), Dosis

Lampiran 3

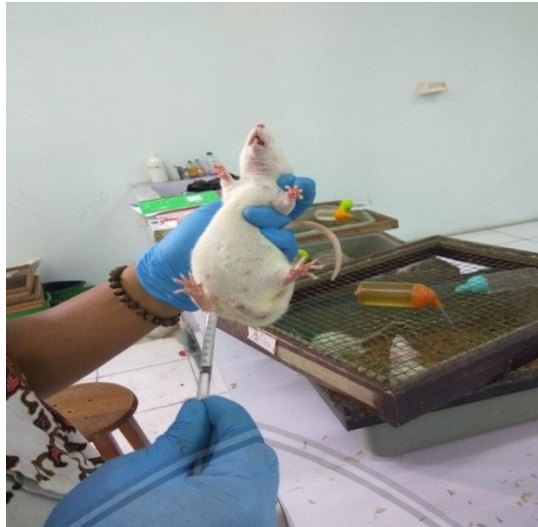
DOKUMENTASI PENELITIAN



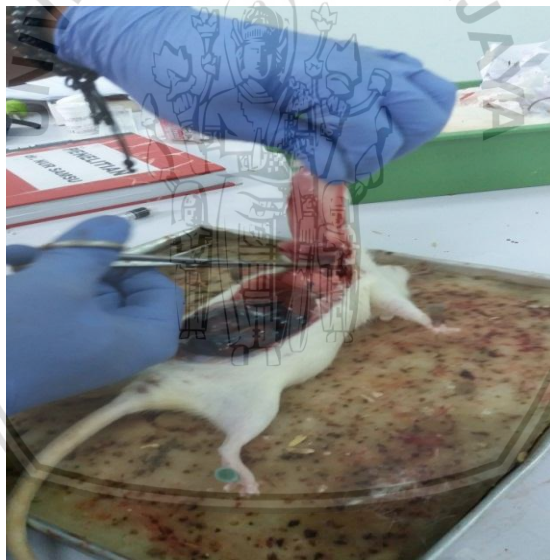
Gambar A. Pengawinan Hewan Coba



Gambar B. Penyondean Air Tape Ketan Putih ke Hewan Coba



Gambar C. Anestesi Hewan Coba sebelum Dibedah



Gambar D. Pembedahan Hewan Coba



Gambar E. Pengambilan Darah dari Jantung



Gambar F. Darah ditampung dalam Tabung EDTA



Gambar G. Alat Ukur Jumlah Sel Darah Putih (ABX Micros 60)



Gambar H. Air Tape Ketan Putih

Lampiran 4. Pernyataan Keaslian Tulisan

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Firda Ayu Retnoningrum

NIM : 145070601111037

Program Studi : S1 Kebidanan

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan atau tulisan atau pikiran orang lain yang saya aku sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.


Malang, 22 Januari 2018

Yang membuat pernyataan,

(Firda Ayu Retnoningrum)

NIM: 145070601111037

Lampiran 5. Keterangan Kelaikan Etik Penelitian

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 314 / EC / KEPK – S1 – KB / 09 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

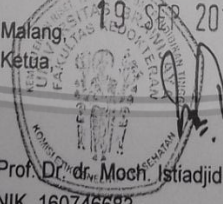
JUDUL : Pengaruh Pemberian Air Tape Ketan Putih terhadap Jumlah Total
Serum Darah Leukosit, Kadar Hemoglobin, Gangguan Pertumbuhan
dan Perkembangan Janin antara lain Malformasi, Berat Badan Lahir
(BBL), Sel Kupffer Hepatosit serta Histologi Plasenta pada Tikus
Rattus norvegicus strain wistar Bunting.

PENELITI : Sauli Nur Laili
Firda Ayu Retnonongrum
Aisyah Nurul Aini
Herdian Fitria Widyanto Putri
Ayu Aniva Sari
Puput Maulidah Fatmala

UNIT / LEMBAGA : S1 Kebidanan – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 19 SEP 2017
Ketua,

Prof. Dr. dr. Moeh. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.Hk
NIK. 160746683

Catatan :
Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan
Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy.
Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik
Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 6. Curriculum Vitae***Curriculum Vitae***

Nama : Firda Ayu Retnoningrum

Tempat, Tanggal Lahir : Cilacap, 18 Maret 1996

Alamat Rumah : RT 04/ RW II, Desa Banjarsari, Kecamatan
Nusawungu, Kabupaten Cilacap, Jawa Tengah

Alamat di Malang : Jalan Mayjend Pandjaitan Gang 19 No 51
Kelurahan Penanggungan, Kecamatan Klojen,
Malang, Jawa Timur


No HP : 081359901902

Riwayat Pendidikan :

1. Lulus TK Pertiwi Banjarsari tahun 2002
2. Lulus SD Negeri Banjarsari 02 tahun 2008
3. Lulus SMP Negeri 2 Nusawungu tahun 2011
4. Lulus SMA Negeri 1 Gombong tahun 2014
5. Masuk Program Studi S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya tahun 2014

Lampiran 7. Lembar Konsultasi Dosen Pembimbing I

repository.ub.ac.id



UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
TUGAS AKHIR
Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 213.214; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://fk.ub.ac.id/tugasakhir e-mail : tugasakhir.fk@ub.ac.id

Form TA 04


LEMBAR KONSULTASI TUGAS AKHIR

Nama : FIRDA AYU RETNORNINGRUM
NIM : 14507060111037
Program Studi : PSPD / PSIK / PSIG / PS S1Keb / PSF
Judul Tugas Akhir : Pengaruh Etanol pada Tape ketan Putih terhadap Jumlah Sel Darah Putih pada tikus betina bunting

Pembimbing I : dr. Nio Kurnianingsih, M. Biomed
Pembimbing II : dr. Astri Probarini, Sp.A, M. Biomed

Tgl	Pembimbing I/II	Topik Pembahasan	Saran Pembimbing	Tanda Tangan
3/3-2017	Pembimbing I	BAB I	lengkapi dan perbaiki kembali	Tha
3/4-2017	Pembimbing I	BAB III dan IV	tempat Pembelian tikus tanyakan ke lab apakah pengukuran bisa dg tape (massa) tambahkan dan Revisi hemopoisi	Tha
13/4-2017	Pembimbing I	BAB I - IV	Perbaiki salah ketik Perbaiki Penulisan daftar pustaka Revisi	Tha
13/5-2017	Pembimbing I	BAB II	Perbaiki kerangka konsep Perbaiki salah ketik dan Penulisan daftar pustaka	Tha
26/5-2017	Pembimbing I	BAB III	Acc. Sempro	Tha
13/1-18	Pembimbing I	BAB IV	lengkapi keterangan di tabel Perbaiki salah ketik	Tha
19/1-18	Pembimbing I	BAB VI	Cari jurnal yang membahas tentang lama paparan.	Tha
22/1-18	Pembimbing I	BAB VII	Sesuaikan redaksi di kesimpulan dengan hipotesis	Tha
23/1-2018	Pembimbing I	BAB V - VII	lengkapi Daftar pustaka	Tha
24/1-2018	Pembimbing I	- BAB V-VII dan lampiran - Acc Semhas	Acc Semhas.	Tha

Lampiran 8. Lembar Konsultasi Pembimbing II



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
TUGAS AKHIR

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 213 214; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://fk.ub.ac.id/tugasakhir e-mail: tugasakhir.fk@ub.ac.id

Form TA 04

LEMBAR KONSULTASI TUGAS AKHIR

Nama : Firda Ayu Retnoningrum
NIM : 145070601111037
Program Studi : RSPD / PSIK / PSIG / PS SIKeb / PSF*)
Judul Tugas Akhir : Pengaruh Tense Kotan Putih terhadap jumlah sel darah putih pada tikus putih betina bunting.

Pembimbing I : dr. Nio Kurniainingsih, M. Biomed
Pembimbing II : dr. Astri Probohin, Sp.A. M. Biomed

Tgl	Pembimbing I / II	Topik Pembahasan	Saran Pembimbing	Tanda Tangan
24/3-2017	Pembimbing II	BAB I	Lanjutkan segera BAB II	fr
10/5-2017	Pembimbing II	BAB I - IV	BAB III ikut dokter Nio (Revisi) Perhatikan penulisan daftar pustaka BAB I, II, IV Perbaiki salah ketik. Posto fix	fr
29/5-2017	Pembimbing II	BAB III - IV	Perbaiki kerangka konsep	fr
5/6-2017	Pembimbing II	Acc. Sempro	Daftar pustaka diperbaiki dan dilengkapi	fr
18/1-18	Pembimbing II	BAB V	lengkapi keterangan di Tabel Sesuaikan format di tabel	fr
19/1-18	Pembimbing II	BAB VI	Cari jurnal Melwati, et al keterangannya.	fr
22/1-18	Pembimbing II	BAB VII	Kesimpulan sesuaikan dengan hipotesis dan dibuat point-point	fr
23/1-18	Pembimbing II	BAB V - VII	lengkapi Daftar pustaka	fr
24/1-18	Pembimbing II	BAB V - VII	Perbaiki salah ketik (typo)	fr
25/1-18	Pembimbing II	BAB V - VII + lampiran	Acc Semhas	fr

*) coret yang tidak perlu

